



УКРАЇНА

(19) UA (11) 126204 (13) C2

(51) МПК (2022.01)

C07K 16/28 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00

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

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **a 2020 01356**

(22) Дата подання заявки: **08.08.2018**

(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: **01.09.2022**

(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **62/542,489**

(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **08.08.2017**

(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **US**

(41) Публікація відомостей про заявку: **10.07.2020, Бюл.№ 13**

(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: **31.08.2022, Бюл.№ 35**

(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: **PCT/EP2018/071462, 08.08.2018**

(72) Винахідник(и): **Оестергаард Міккель Захле (CH)**

(73) Володілець (володілці): **Ф. ХОФФМАНН-ЛЯ РОШ АГ, Grenzacherstrasse 124, 4070 Basel, Switzerland (CH), НАНОСТРИНГ ТЕКНОЛОДЖІС, ІНК., 530 Fairview Ave North, Seattle, Washington 98109, United States of America (US)**

(74) Представник: **Петров Андрій Володимирович, реєстр. №139**

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
WO 2016049214 A1, 31.03.2016
WO 2017097723 A2, 15.06.2017
Vitolo Umberto et al. Obinutuzumab or Rituximab Plus CHOP in Patients with Previously Untreated Diffuse Large

(56) B-Cell Lymphoma: Final Results from an Open-Label, Randomized Phase 3 Study (GOYA). BLOOD, & 58TH ANNUAL MEETING AND EXPOSITION OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-HEMATOLOGY (ASH); SAN DIEGO, CA, USA; DECEMBER 03-06, 2016, 02.12.2016, Vol. 128, No. 22, P. 470
Matasar M. et al. POLATUZUMAB VEDOTIN PLUS BENDAMUSTINE AND RITUXIMAB OR OBINUTUZUMAB IN RELAPSED/REFRACTORY FOLLICULAR LYMPHOMA OR DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA: UPDATED RESULTS OF A PHASE 1B/2 STUDY. HAEMATOLOGICA, & 22ND CONGRESS OF THE EUROPEAN-HEMATOLOGY-ASSOCIATION; MADRID, SPAIN; JUNE 22 -25, 2017, 26.06.2017, Vol. 102, No. Suppl. 2, P. 173
Zelenetz Andrew D. et al. Results of a Phase Ib Study of Venetoclax Plus R- or G-CHOP in Patients with B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma. Blood, & 58TH ANNUAL MEETING AND EXPOSITION OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-HEMATOLOGY (ASH); SAN DIEGO, CA, USA; DECEMBER 03 -06, 2016, 02.12.2016, Vol. 128, No. 22, P. 3032
Michot J-M et al. CC-122 IN COMBINATION WITH OBINUTUZUMAB (GA101): PHASE IB STUDY IN RELAPSED OR REFRACTORY PATIENTS WITH DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA, FOLLICULAR LYMPHOMA, OR MARGINAL ZONE LYMPHOMA. HAEMATOLOGICA, & 22ND CONGRESS OF THE EUROPEAN-HEMATOLOGY-ASSOCIATION; MADRID, SPAIN; JUNE 22 -25, 2017, 26.06.2017, Vol. 102, No. Suppl. 2, P. 172 – 173
Dubois S. et al. Next-Generation Sequencing in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Highlights Molecular Divergence and Therapeutic Opportunities: a LYSA Study. Clinacal cancer research, 15.06.2016, Vol. 22, No. 12, P. 2919 – 2928
Lim M. S. et al. Precision Medicine for Diffuse Large B-cell Lymphoma. Clinacal cancer research, 15.06.2016, Vol. 22, No. 12, P. 2829 – 2831
Lenz G. et al. Molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma arise by distinct genetic pathways. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, 09.09.2008, Vol. 105, No. 36, P. 13520 – 13525
Guillaume Cartron et al. Obinutuzumab: what is there to learn from clinical trials? Blood, 03.08.2017, Vol. 130, No. 5, P. 581 – 589
Tomita Akihiro Genetic and Epigenetic Modulation of CD20 Expression in B-Cell Malignancies: Molecular Mechanisms and Significance to Rituximab Resistance. Journal of clinical and experimental hematopathology, 01.01.2016, Vol. 56, No. 2, P. 89 – 99
Zhai John et al. Pharmacokinetics of obinutuzumab in Chinese patients with B-cell lymphomas : Pharmacokinetics of obinutuzumab in Chinese patients with B-cell lymphomas. British journal of clinical pharmacology, 01.07.2017, Vol. 83, No. 7, P. 1446 - 1456
Hsiling Chiu et al. CC-122 Exhibits Potent Anti-Lymphoma Activity in Combination with Obinutuzumab through Cell Autonomous and Antibody Dependent Cell Mediated Cytotoxicity. BLOOD, & 57TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-HEMATOLOGY; ORLANDO, FL, USA; DECEMBER 05-08, 2015, 12.2015, Vol. 126, No. 23

UA 126204 C2

(54) ЛІКУВАННЯ НОВОЇ ПІДГРУПИ ПАЦІЄНТІВ ІЗ DLBCL ЗА ДОПОМОГОЮ ОБІНУТУЗУМАБУ

(57) Реферат:

Даний винахід стосується гуманізованого антитіла II типу до CD20, а саме обінутузимабу або його функціональних еквівалентів, для застосування для лікування переважного визначеного за допомогою біомаркера DLBCL пацієнта та нової підгрупи пацієнтів із DLBCL, відповідно. Даний винахід додатково стосується способу лікування DLBCL за допомогою обінутузимабу або його функціональних еквівалентів у пацієнта, який цього потребує, де вказаний пацієнт є конкретним пацієнтом із визначеною за допомогою біомаркера DLBCL або належить до нової підгрупи пацієнтів визначеної за допомогою біомаркера DLBCL, застосування обінутузимабу або його функціональних еквівалентів для приготування фармацевтичної композиції для лікування DLBCL у конкретного пацієнта із визначеною за допомогою біомаркера DLBCL/нової підгрупи пацієнтів із DLBCL, способу ідентифікації конкретного пацієнта із DLBCL/нової підгрупи пацієнтів із DLBCL, способу діагностики нової форми DLBCL та конкретного пацієнта із DLBCL/нової підгрупи пацієнтів із DLBCL.

Даний винахід стосується обінутузумабу (або його функціональних еквівалентів) для застосування для лікування переважного визначеного за допомогою біомаркера DLBCL пацієнта та нової підгрупи пацієнтів із DLBCL, відповідно. Даний винахід додатково стосується способу лікування DLBCL за допомогою обінутузумабу (або його функціональних еквівалентів) у пацієнта, який цього потребує, де вказаний пацієнт є конкретним пацієнтом із визначеною за допомогою біомаркера DLBCL або належить до нової підгрупи пацієнтів визначеної за допомогою біомаркера DLBCL. Даний винахід додатково стосується застосування обінутузумабу (або його функціональних еквівалентів) для приготування фармацевтичної композиції для лікування DLBCL у конкретного пацієнта із визначеною за допомогою біомаркера DLBCL/нової підгрупи пацієнтів із DLBCL. Даний винахід додатково стосується способу ідентифікації конкретного пацієнта із DLBCL /нової підгрупи пацієнтів із DLBCL та способу діагностики нової форми DLBCL та конкретного пацієнта із DLBCL /нової підгрупи пацієнтів із DLBCL, відповідно.

Дифузна великоклітинна В-клітинна лімфома (DLBCL) є найбільш поширеним типом агресивної неходжкінської лімфони (NHL). Імунохіміотерапія за допомогою моноклонального антитіла до CD20 (mAb) ритуксимабу (R), плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрестин та преднізон (CHOP), є стандартним лікуванням раніше не підданих лікуванню пацієнтів, які знаходяться на пізній стадії захворювання (Coiffier, N. Engl. J. Med. 346, 2002, 235-242; Tilly, Ann. Oncol. 26, 2015, v116-v125 (дод. 5); NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Non-Hodgkin's Lymphomas, версія 3, 2016; див. також www.NCCN.org). Дослідження показали відсоток пацієнтів із повною та непідтвердженою повною відповіддю (CR/CRu) на рівні 76 % (GELA дослідження) (Coiffier loc. cit.), та 2-х річне виживання, не пов'язане із неефективністю лікування 77 % (Habermann, J. Clin. Oncol. 24, 2006, 3121-3127). Незважаючи на те, що лікування першої лінії (1L) для DLBCL є ефективною для багатьох пацієнтів (Maurer, J. Clin. Oncol. 32, 2014, 1066-1073), все ще існує потреба поліпшення результатів лікування для 20–40 % пацієнтів, які не можуть досягти ремісії або у яких настає рецидив та результати лікування із застосування консервативного лікування залишаються поганими (Sehn, Blood 125, 2015, 22-32).

Обінутузумаб (Gazyva™/Gazyvaro™ GA101; G) представляє собою анти-CD20 mAb типу II з модифікованою схемою глікозилування, з більшою прямою індукцією смерті клітин, та антитілозалежною клітинною цитотоксичністю та фагоцитозом, ніж R (Herter, Mol. Cancer Ther. 12, 2013, 2031-2042; Mössner, Blood 115, 2010, 4393-4402; EP-B1 2380910; WO 2005/044859; див. також Illidge, Expert Opin. Biol. Ther. 12(5), 2012, 543-5). В фазі 3 досліджень раніше нелікованих пацієнтів з хронічним лімфолейкозом (CLL) та супутніми станами (CLL11), або фолікулярною лімфомою (FL; GALLIUM), G забезпечував більшу ефективність, ніж R (Goede, N. Engl. J. Med. 370, 2014, 1101-1110; Marcus, N. Engl. J. Med. (Accepted May 2017: готується до друку). В менших дослідженнях, G монотерапія та G-CHOP продемонстрували перспективність при агресивних формах неходжкінської лімфони (NHL), включаючи DLBCL (Morschhauser, J. Clin. Oncol. 31, 2013, 2912-2919; Zelenetz, Blood 122, 2013, 1820). Також Owen (Expert Opin. Biol. Ther. 12(3), 2012, 343-51) обговорювали застосування обінутузумабу для лікування лімфопроліферативних порушень. В клінічній фазі 3 багатоцентрового, відкритого, рандомізованого дослідження (GOYA; див. нижче для більш докладного опису) порівнювали ефективність та безпеку G-CHOP із R-CHOP у раніше нелікованих пацієнтів із DLBCL. Проте, в GOYA, G-CHOP не поліпшив клінічний результат (наприклад, виживання без прогресування захворювання (PFS)) в порівнянні із R-CHOP для раніше нелікованого DLBCL (1L DLBCL) відносно цілої групи пацієнтів 1L DLBCL, які первинно були відібрані для лікування в контексті GOYA.

Scott (Blood 123(8), 2014, 1214-7; JCO 33(26), 2015, 2848 57; Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book 2015, 35:e458–66) та інші (Nowakowski, Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book 2015, 35:e449–57) здійснили визначення на основі експресії генів підтипів клітин-попередників (COO) DLBCL за допомогою аналізу NanoString Lymph2Cx (Scott 2014 та 2015 loc. cit.). Зокрема, Scott (2014 та 2015 loc. cit.) виділили підтипи COO для DLBCL, подібні до В-клітин зародкового центру DLBCL (GCB DLBCL), подібні до активованих В-клітин DLBCL (ABC DLBCL) та неklasифіковані DLBCL, на основі аналізу експресії генів для 20 генів та Оцінки лінійного передбачення (LPS) для ~ <1900, ~ 1900 – ~ 2450 та ~ >2450, відповідно, (пор. Scott 2014 loc. cit., Fig. 1). Scott (2014 та 2015 loc. cit.) також оцінили ефект лікування R-CHOP на цих COO підтипах DLBCL.

Runnouse (Blood 126, 2015, 3971; див. також <http://www.bloodjournal.org/content/126/23/3971>) описали перевагу та прогностичну цінність експресії білків BCL2 та MYC для ABC та GCB COO підтипів у пацієнтів з раніше нелікованих DLBCL із MAIN, фази III дослідження, в якому оцінювали бевацизумаб плюс R-CHOP (NCT 00486759).

Challa-Malladi (Cancer Cell 20, 2011, 728-40) описали, що комбінована генетична інактивація

$\beta 2$ -мікроглобуліну та CD58 розкриває частоту уникнення імунного розпізнавання при DLBCL.

Незважаючи на досягнуті раніше успіхи у лікуванні DLBCL (наприклад, завдяки перевагам із R, зокрема R-CHOP), проте, на даний час все ще існує велика невирішена медична потреба для деяких DLBCL пацієнтів (пор. NCCN clinical practice guidelines in oncology; Non-Hodgkin's Lymphoma, v 2.2015) для поліпшеного лікування (пор. Sehn, loc. cit.).

Таким чином, технічна задача, яка лежить в основі даного винаходу, полягає в забезпечення поліпшеного лікування DLBCL у певних пацієнтів.

Вирішення вказаної технічної задачі забезпечується в даній заявці нижче та охарактеризовано в пунктах формули винаходу, яка додається.

Несподівано в контексті даного винаходу було виявлено що, серед всіх DLBCL пацієнтів, деякі пацієнти відповідають на лікування із застосуванням обінутузумабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією) шляхом поліпшення клінічного результату, зокрема, в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією). Також несподівано в контексті даного винаходу було виявлено, що можуть бути ідентифіковані/визначені підгрупи DLBCL пацієнтів, які відповідають на лікування із застосуванням обінутузумабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією) шляхом поліпшення клінічного результату, зокрема, в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією). Також несподівано в контексті даного винаходу було виявлено, що існують DLBCL пацієнти, які відповідають на лікування із застосуванням обінутузумабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією) шляхом поліпшення клінічного результату, зокрема, в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією). Основним ключовим моментом даного винаходу є те, що такі конкретні DLBCL пацієнти та підгрупи DLBCL пацієнтів, відповідно, дійсно можуть бути визначені; також в даній заявці позначається як "пацієнт, визначений в даній заявці". Подальшою перевагою даного винаходу є те, що такий пацієнт може бути визначений за допомогою біомаркерів (також в даній заявці позначається як "прогностичні біомаркери" та "пацієнт, визначений за допомогою прогностичного біомаркера", відповідно).

Особливо, на основі попередніх аналізів GOYA, в контексті даного винаходу було продемонстровано та проілюстровано в представлених прикладах здійснення винаходу, що обінутузумаб є кращим за ритуксимаб (кожний в комбінації з CHOP хіміотерапією) в підгрупі (ах) GCB DLBCL пацієнтів (наприклад, в підгрупі пацієнтів із новою молекулярною фолікулярною лімфомою (FL)-подібним GCB DLBCL) та/або у DLBCL пацієнтів з мутаціями в CD58 та/або з низькою експресією CD58. Це вперше було ідентифіковано, що обінутузумаб проявляє переваги відносно R для певних пацієнтів, зокрема для пацієнта, визначеного в даній заявці.

Наприклад, в контексті даного винаходу, були ідентифіковані/визначені наступні визначені за допомогою біомаркера DLBCL пацієнти, які мають переваги від лікування із застосуванням G (наприклад, G-CHOP) в порівнянні із лікуванням із застосуванням R (наприклад, R-CHOP):

- BCL2 транслоковані пацієнти (див., наприклад, Фіг. 4);
- пацієнти, позитивні за експресією BCL2 білка (див., наприклад, Фіг. 5);
- BCL2 транслоковані пацієнти, які позитивні за експресією BCL2 білка (див., наприклад, Фіг. 6);

- (а) підгрупа (и) GCB DLBCL пацієнтів. Вони можуть бути ідентифіковані, наприклад, як: підгрупа (COO) класифікації GCB пацієнтів за допомогою граничних значень Оцінки лінійного передбачення (LPS) в підгрупу "сильні-GCB" пацієнти (пацієнти із LPS < граничного значення; наприклад, в порівнянні із загальним GCB DLBCL граничним значенням LPS ~ 1900) (див., наприклад, Фіг. 7, 10 та 12);

GCB пацієнти із високою експресією BCL2 гена;
GCB пацієнти, які позитивні за експресією BCL2 білка;
GCB пацієнти із BCL2 транслокацією;
GCB пацієнти із BCL2 транслокацією, які позитивні за експресією BCL2 білка (див., наприклад, Фіг. 8);

- CD58 мутовані пацієнти та/або пацієнти з низькою експресією CD58 (див., наприклад, Фіг. 9).

Більш переважно, на основі попередніх аналізів GOYA, в контексті даного винаходу було продемонстровано та проілюстровано в представлених прикладах здійснення винаходу, що при оцінюванні LPS як безперервної змінної було ідентифіковано підгрупу GCB пацієнтів, які мають переваги від G (особливо, G-CHOP) відносно R (особливо, R-CHOP). Ще більш переважно,

спостерігали, що зважена експресія матричного профілю експресії гена (GE) (виміряного за допомогою LPS) зв'язана із перевагою в результатах від G лікування (наприклад, G-CHOP) відносно R лікування (наприклад, R-CHOP) для GCB пацієнтів в GOYA.

На підставі цього, можуть бути визначені нові граничні значення LPS, що визначають сильну-GCB DLBCL підгрупу пацієнтів із перевагою від G лікування в порівнянні із R лікуванням. Ці нові граничні значення є суттєво значно нижчими за LPS граничне значення, яке зазвичай присвоюють GCB DLBCL (~ <1900)). Наприклад, було визначено нове LPS граничне значення ≤ 749 в мультиваріантних аналізах моделювання (пор. Фігура 10). Відповідно до цього прикладу, "сильні-GCB" пацієнти, визначені як пацієнти із LPS ≤ 749 , становлять 25 % (233/933) оцінюваних DLBCL пацієнтів та 43 % (233/540) оцінюваних GCB пацієнтів в GOYA. Як інший приклад, було визначено нове LPS граничне значення ≤ 725 в мультиваріантних аналізах моделювання (пор. Фігури 10, 12). Відповідно до цього прикладу, "сильні-GCB" пацієнти визначені більш жорстко як пацієнти із LPS ≤ 725 . Ці пацієнти становлять 25 % (229/933) оцінюваних DLBCL пацієнтів та 43 % (229/540) оцінюваних GCB пацієнтів в GOYA. Було показано, що граничне значення LPS приблизно 725 надзвичайну стійкість та високу генералізованість результатів для незалежних груп ("пацієнт, визначений в даній заявці"), а саме сильні-GCB DLBCL пацієнти. За було показано за допомогою бутстреп стимуляцій.

Сильні-GCB пацієнти, ліковані за допомогою G (G-CHOP), досягають значно кращих клінічних результатів, наприклад, за такими параметрами як виживання без ознак прогресування захворювання (PFS), безподійне виживання (EFS), та загальне виживання (OS), ніж ті, яких лікували за допомогою R (R-CHOP) (пор. Таблиця 4). Високий рівень безпеки був подібний для будь-якої схеми лікування.

Згідно з даними аналізів представленості груп генів на FoundationOne® Heme (FON), сильні-GCB пацієнти були додатково охарактеризовані як значно більше збагачені на ознаки FL соматичної мутації, в порівнянні із іншими GCB пацієнтами, які позначаються як "слабкі-GCB" пацієнти (наприклад, рівні хибнопозитивних результатів, FDR, 3.54e-9). Особливо, BCL2 транслокації та мутації/частоти мутацій в деяких m7-FLIPI генах (BCL2, BCL6, CD70, CDKN2A, CREBBP, EP300, IGH, MEF2B, MYC, MYD88, PCLO, TNFAIP3, TNFRSF14) були набагато більше збагачені у сильних-GCB пацієнтів, та/або у DLBCL пацієнтів із BCL2 транслокаціями та/або із високою BCL2 експресією, в порівнянні із іншими DLBCL пацієнтами (при FDR <5 %; Фігура 11). Відсутні докази наявності трансформованої невираженої NHL в сильній-GCB підгрупі при аналізі центральної патології.

Беручи до уваги все вищевикладене, були ідентифіковані нові клінічні та молекулярно відмінні підтипи DLBCL, а саме GCB DLBCL, зокрема, підтип, який позначається як "сильні-GCB". Ідентифіковані підтипи представляють собою de novo DLBCL. Вони проявляють молекулярні характерні ознаки FL, такі як FL-типові мутації (пор. Morin, Nature 476 (7360), 2011, 298-303), незважаючи на це, вони клінічно відрізняються від FL. Лікування за допомогою G (наприклад, G-CHOP) надає суттєві клінічні переваги в порівнянні із лікуванням R (наприклад, R-CHOP) в цих нових підгрупах (GCB) DLBCL пацієнтів ("пацієнт, визначений в даній заявці"), особливо, 1L (GCB) DLBCL.

Таким чином, винахід забезпечує засоби та способи для ідентифікації /визначення/діагностики (а) підгрупи (п) (GCB) DLBCL пацієнтів, які сприятливо відповідають на обінутузумаб ("пацієнт, визначений в даній заявці"), зокрема, більш сприятливо на обінутузумаб в порівнянні із R. Ідентифікація / визначення /діагностику можна здійснювати декількома шляхами, наприклад, за допомогою визначення, чи має місце BCL2 транслокація та/або понадекспресія BCL2 білка, чи є (а) генетична (і) мутація (і) в CD58 та/або має місце знижена експресія CD58, або за допомогою профілювання експресії гена /визначення зваженої експресії гена (наприклад, шляхом застосування NanoString COO аналізу) та використовуючи нові граничне значення для LPS (як описано в даній заявці в будь-якому місці).

Більш переважно, винахід стосується способу ідентифікації DLBCL пацієнта (пацієнта із/який страждає від DLBCL), який відповідає на лікування із застосуванням обінутузумабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією) шляхом досягнення поліпшеного клінічного результату в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією). Вказаний спосіб включає (стадію) визначення (наприклад, шляхом застосування зразка (пухлини) пацієнта), чи пацієнт представляє собою пацієнта, як визначено в даній заявці.

Винахід додатково стосується способу діагностики у пацієнта форма DLBCL, який може піддаватися лікуванню із застосуванням обінутузумабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією) таким чином, що досягається поліпшений клінічний результат в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу (особливо, в

комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією). Вказаний спосіб включає (стадію) визначення (наприклад, шляхом застосування зразка (пухлини) пацієнта), чи пацієнт представляє собою пацієнта, як визначено в даній заявці. Вказаний спосіб (додатково) включає (стадію) діагностування вказаної форми DLBCL, якщо пацієнт представляє собою пацієнта, як визначено в даній заявці.

Даний винахід також стосується медичного втручання / лікування пацієнта, визначеного в даній заявці, за допомогою обінутузумабу, або за допомогою його функціонального еквіваленту. В принципі, термін "обінутузумаб", як використовується в даній заявці, також охоплює його функціональні еквіваленти (див. нижче щодо додаткових пояснень/визначень).

В одному аспекті, даний винахід стосується обінутузумабу для застосування для лікування DLBCL у пацієнта, як визначено в даній заявці.

В контексті цього застосування, наприклад, передбачається, що (I) було визначено (наприклад, шляхом застосування зразка (пухлини) пацієнта), чи пацієнт, який підлягає лікуванню, представляє собою пацієнта, визначеного в даній заявці, (II) пацієнта, який підлягає лікуванню, було ідентифіковано відповідно до способу ідентифікації за винаходом, або (III) форма DLBCL була діагностована у пацієнта, який підлягає лікуванню відповідно до способу діагностики за винаходом.

В іншому аспекті, даний винахід стосується обінутузумабу для застосування для лікування DLBCL у пацієнта, як визначено в даній заявці, де наприклад, передбачається, що вказане лікування включає стадію (I) визначення (наприклад, шляхом застосування зразка (пухлини) пацієнта), чи (DLBCL) пацієнт, який підлягає лікуванню, представляє собою пацієнта, як описано в даній заявці, (II) ідентифікацію DLBCL пацієнта відповідно до способу ідентифікації за винаходом, або (III) діагностування у пацієнта форми DLBCL відповідно до способу діагностики за винаходом.

В контексті (стадії) визначення/ідентифікації/діагностики, можна застосовувати зразок (DLBCL) пацієнта, наприклад, зразок пухлини (DLBCL) пацієнта. Визначення можна здійснювати в зразку (DLBCL) пацієнта, наприклад, у зразку пухлини (DLBCL) пацієнта. Необмежувальним прикладом переважного зразка, який застосовують відповідно до даного винаходу, є зразок тканини пухлини/біопсії пухлини, більш переважно зафіксована у формаліні, залита у парафін тканина пухлини/біопсія пухлини. Такий зразок можна приготувати, наприклад, як описано в Scott (2014 та 2015 loc. cit.). Інші підходящі приклади описані в даній заявці в будь-якому місці.

В іншому аспекті, даний винахід стосується способу лікування DLBCL у пацієнта, який цього потребує, де вказаний пацієнт представляє собою пацієнта, як визначено в даній заявці. Спосіб може включати стадії одержання зразка пацієнта від тих пацієнтів, яким передбачається DLBCL терапія, та/або тестування пацієнта/ зразка пацієнта для визначення того, чи вказаний пацієнт представляє собою пацієнта, як визначено в даній заявці. Передбачається, що спосіб лікування відповідно до винаходу включає стадію введення фармацевтично ефективної кількості обінутузумабу пацієнту, який піддається лікуванню. В контексті цих стадій, зокрема, стадії тестування, можна застосовувати зразок (пухлини) (DLBCL) пацієнта. Тестування можна здійснювати в зразку (пухлини) (DLBCL) пацієнта. Все, що вказано вище в даній заявці та в будь-якому місці стосовно "зразка", також може застосовуватися в даному контексті, з відповідними змінами всіх факторів.

В контексті цих стадій, зокрема в контексті стадії тестування (або замість цієї стадії) також можна застосовувати спосіб ідентифікації або діагностування відповідно до винаходу.

В іншому аспекті, даний винахід стосується застосування обінутузумабу для приготування фармацевтичної композиції для лікування DLBCL у пацієнта, як визначено в даній заявці. Вказане лікування може включати стадію визначення/ідентифікації/діагностування відповідно до даного винаходу, чи (DLBCL) пацієнт, який підлягає лікуванню, представляє собою пацієнта, як описано в даній заявці. В контексті стадії визначення/ідентифікації/діагностування, можна застосовувати (DLBCL) пацієнта, наприклад, зразок пухлини (DLBCL) пацієнта. Визначення можна здійснювати в зразку (DLBCL) пацієнта, наприклад, у зразку пухлини (DLBCL) пацієнта. Все, що вказано вище в даній заявці та в будь-якому місці стосовно "зразка", також може застосовуватися в даному контексті, з відповідними змінами всіх факторів. Аналогічно до цього, все, що вказано вище в даній заявці стосовно застосування і лікування, також застосовується в даному контексті, з відповідними змінами всіх факторів.

Пацієнт, який піддається лікуванню відповідно до даного винаходу ("пацієнт, визначений в даній заявці") представляє собою пацієнта, зокрема, пацієнта із/який страждає від DLBCL, який відповідає на лікування із застосуванням обінутузумабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією) шляхом досягнення поліпшеного клінічного

результату в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією).

В одному аспекті/варіанті здійснення винаходу (аспект/варіант здійснення А), пацієнт, визначений в даній заявці (який піддається лікуванню із застосуванням обінтузумабу) представляє собою пацієнта, визначеного за допомогою прогностичного біомаркера.

Біомаркер є "прогностичним" відповідно до даного винаходу, якщо він може застосовуватися для ідентифікації пацієнта, визначеного в даній заявці (необов'язково в комбінації з одним або декількома іншими (прогностичними) біомаркерами), а саме пацієнта, який відповідає на лікування із застосуванням обінтузумабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією) більш сприятливо, ніж на лікування із застосуванням ритуксимабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією). Більш переважно, біомаркер є прогностичним, якщо ефект лікування (а саме G лікування в порівнянні із R лікуванням) відрізняється між визначеними за допомогою біомаркера (підгрупами) пацієнтів. Є переважним в даному контексті, що прогностичний (i) біомаркер (и) представляє (ють) біомаркер (и), як описано в даній заявці в будь-якому місці. Переважні приклади прогностичних біомаркерів, які можуть бути оцінені в контексті даного винаходу, представляють собою CD58 (наприклад, (а) генетична (i) мутація (i) в ньому та/або його низька експресія), BCL2 (наприклад, транслокації та/або його висока експресія) та один або декілька (переважно всі) генів TNFRSF13B, LIMD1, IRF4, CREB3L2, PIM2, CYB5R2, RAB7L1 та CCDC50; та MME, SERPINA9, ASB13, MAML3, ITPKB, MYBL1 та S1PR2 (наприклад, його зважена експресія, що приводить до LPS значно нижче ~ 1900). В даному контексті, посилання також робиться на відомості, які розкриті в даній заявці нижче, зокрема в контексті аспектів /варіантів здійснення Б - Є, далі.

В одному аспекті/варіанті здійснення винаходу (аспект/варіант здійснення Б), пацієнт, визначений в даній заявці (який піддається лікуванню із застосуванням обінтузумабу) представляє собою пацієнта із/який страждає від молекулярної фолікулярної лімфоми (FL)-подібної В-клітини зародкового центру (GCB) DLBCL.

"Молекулярна" в даному контексті означає, що, на молекулярному рівні, пацієнти подібні до FL пацієнтів (пор. Morin loc. cit.). Незважаючи на це, передбачається, що, на клінічному рівні /клінічно, пацієнти не подібні до FL пацієнтів.

Відповідно до даного винаходу, молекулярна FL-подібна GCB DLBCL відповідно до цього аспекту/ варіанту здійснення переважно характеризується як сильні-GCB DLBCL відповідно до даного винаходу та/або як DLBCL у пацієнтів із BCL2 транслокаціями та/або високою BCL2 експресією (див. аспекти /варіанти Г та Д, далі).

Пацієнт, який страждає від молекулярної FL-подібної GCB DLBCL відповідно до даного винаходу, також може бути охарактеризований як пацієнт із однією або (переважно) декількома мутаціями в одному або (переважно) декількох генах, вибраних із групи, яка включає BCL2, BCL6, CD70, CDKN2A, CREBBP, EP300, IGH, MEF2B, MYC, MYD88, PCLO, TNFAIP3 та TNFRSF14. Хоча менше переважно, пацієнт, який страждає від молекулярної FL-подібної GCB DLBCL відповідно до даного винаходу, також може бути охарактеризований як пацієнт із однією або (переважно) декількома мутаціями в одному або (переважно) декількох генах, вибраних із групи, яка включає BCL2, CREBBP, EP300, EZH2, MEF2B, PCLO, та TNFRSF14, із однією або (переважно) декількома мутаціями в одному або (переважно) декількох генах, вибраних із групи, яка включає CREBBP, EP300, EZH2, MEF2B та TNFRSF14, або із однією або (переважно) декількома мутаціями в одному або (переважно) декількох генах, вибраних із групи, яка включає EZH2, MEF2B та TNFRSF14.

Одним із переважних, але не обмежувальних, прикладів прийнятної мутації в цьому аспекті є BCL2 мутація, зокрема BCL2 транслокація (див. нижче для більш докладного опису).

Мутація (i) може (уть), наприклад, бути ідентифікована (i) на основі dodаних прикладів. В цьому аспекті можна застосовувати секвенування наступного покоління Foundation Medicine, наприклад, FoundationOne® Heme (відповідно до інструкцій виробника).

В одному аспекті/варіанті здійснення винаходу (аспект/варіант здійснення В), пацієнт, визначений в даній заявці (який піддається лікуванню із застосуванням обінтузумабу) представляє собою пацієнта з однією або декількома генетичними мутаціями в CD58 та/або з низькою експресією CD58.

Відомо, що CD58 (див. також Challa-Malladi loc. cit.) задіяний в імунне розпізнавання пухлинних клітин та експресується на пухлинних клітинах. CD58 зв'язується з CD2 на ефекторних CTL та NK клітинах (таких чином забезпечуючи активаційні сигнали імунних ефекторних клітин). Присутність генетичних аберацій в CD58 пов'язана із втратою або аберантною CD58 поверхневою експресією (наприклад, що виявляється за допомогою

імуногістохімії, ІНС). 67 % DLBCL випадків проявили аберантну експресію CD58 білка; з однаковою пропорцією в GCB та ABC COO підгрупах.

Нуклеотидні послідовності, які кодують CD58 та амінокислотні послідовності CD58, зокрема, CD58 *Homo sapiens* (людини), добре відомі в даній галузі. Вони можуть бути скачані, наприклад, за допомогою наступного уніфікованого вказівника інформаційного ресурсу (Uniform Resource Locator (URL))

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/search/?term=Homo+sapiens+CD58&utm_expid=.fAeHyO5JTBGxnObh2WlrCA.0&utm_referrer=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fsearch%2F%3Fterm%3DHomo%2Bsapiens%2BCD58. Нуклеотидні послідовності, які кодують CD58, зокрема, CD58 *Homo sapiens* (людини), доступні, наприклад, за №№ доступу NCBI: XM_017002869.2 (варіант X1); NR_026665.1 (варіант 3); NM_001779.2 (варіант 1); NM_001144822.1 (варіант 2). Амінокислотні послідовності CD58, зокрема, CD58 *Homo sapiens* (людини), доступні, наприклад, за №№ доступу NCBI: XP_016858358.1 (ізоформа X1); NP_001138294.1 (ізоформа 2); NP_001770.1 (ізоформа 1). Приклад нуклеотидної послідовності, яка кодує CD58 *Homo sapiens* (людини), представлена в SEQ ID NO:11. Приклад амінокислотної послідовності CD58 *Homo sapiens* (людини) представлена в SEQ ID NO:12.

В принципі, "експресія" в контексті даного винаходу охоплює обидва поняття, експресію гена, а саме появу (первинної) мРНК (рівень транскрипції), та експресію білка, а саме появу білка (рівень трансляції).

Поява (первинної) мРНК можна виміряти/виявити, наприклад, за допомогою методик гібридизації *in situ* (ISH), наприклад, шляхом флуоресценції ISH (FISH). Відповідні засоби та способи відомі в даній галузі техніки і є такими, як описано, наприклад, в Zhang (Chin. J. Cancer. Res. 23(2), 2011, 160–4; див. також <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3587538/>).

Експресію гена/появу (первинної) мРНК, зокрема експресію CD58 гена/появу (первинної) мРНК CD58, також може бути оцінено за допомогою РНК секвенування TruSeq® (відповідно до інструкцій виробника (Illumina®, Inc.)).

Появу білка можна виміряти/виявити, наприклад, за допомогою ІНС. Відповідні засоби та способи відомі в даній галузі техніки і є такими, як описано, наприклад, в Punnoose (loc. cit.; див. також <http://www.bloodjournal.org/content/126/23/3971>).

Експресію білка/появу білка, зокрема експресію білка CD58, також можна виміряти/виявити, як описано в Challa-Malladi loc. cit.

В цілому, засоби та способи для оцінки експресії CD58 та мутацій CD58 відомі в даній галузі техніки (див., наприклад, Challa-Malladi loc. cit.). Крім того, кваліфікований фахівець в даній галузі техніки легко може оцінити, чи дана експресія CD58 є "низькою" відповідно до даного винаходу або чи існує (ють) (а) мутація (і) CD58 відповідно до даного винаходу. Крім того, кваліфікований фахівець в даній галузі техніки легко може вибрати підходящий контроль в порівнянні з яким дана експресія CD58 розглядається як "знижена" відповідно до даного винаходу або в порівнянні із тим, який розглядається, коли існує (ють) (а) мутація (і) CD58 відповідно до даного винаходу. В даному контексті, кваліфікований фахівець в даній галузі техніки, наприклад, також може ґрунтуватися на Challa-Malladi (loc. cit.).

В контексті даного винаходу, "низька експресія CD58" означає, що CD58 експресується на суттєво зниженому рівні, особливо в порівнянні із підходящим контролем. В цілому, "низька експресія CD58" відповідно до даного винаходу означає, що експресія CD58 є настільки низькою (наприклад, $\pm 10\%$ або менше, $\pm 7,5\%$ або менше, $\pm 5\%$ або менше, $\pm 3\%$ або менше, $\pm 2\%$ або менше, $\pm 1\%$ або менше, або навіть $\pm 0\%$), як експресія CD58 у респондера відповідно до даного винаходу (а саме пацієнта, який відповідає на лікування із застосуванням обінутузумабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з СНОР хіміотерапією) шляхом досягнення поліпшеного клінічного результату в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з СНОР хіміотерапією); "пацієнт, визначений в даній заявці") та/або нижче, ніж експресія CD58 в не-респондера відповідно до даного винаходу (а саме пацієнта, який відповідає на лікування із застосуванням обінутузумабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з СНОР хіміотерапією) шляхом недосягнення поліпшеного клінічного результату в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з СНОР хіміотерапією); не-"пацієнт, визначений в даній заявці"). Фахівець в даній галузі легко може оцінити, чи експресія CD58 є "низькою" в цьому аспекті та застосувати підходящий контроль. Наприклад, контроль в цьому аспекті може представляти собою звичайну DLBCL популяцію, більш переважно DLBCL пацієнти, які не класифіковані як належать до підгрупи пацієнтів, класифікованих відповідно до даного винаходу (не-"пацієнт, визначений в даній заявці").

"Низька експресія CD58" може представляти собою експресію CD58, нижчу, ніж усереднена експресія CD58 в контрольній групі, наприклад, в таких вищевказаних контрольних групах. Наприклад, "низька експресія CD58" та "знижений рівень" експресії CD58, відповідно, згідно із даним винаходом може представляти собою експресію CD58, яка знижена в порівнянні із

усередненою експресією CD58 серед спостережуваних GOYA пацієнтів.

Як одиниця експресії CD58 (гену), може застосовуватися одиниця $\log_2(\text{nRPKM})$, що представляє собою нормалізовані зчитування на мільйон т.п.н. Усереднена експресія CD58, використовуючи цю одиницю для GOYA пацієнтів, становить приблизно 5,3. Таким чином, "низька експресія CD58" та "знижений рівень" експресії CD58, відповідно, згідно із даним винаходом може представляти собою експресію CD58, яка є нижчою ніж експресія CD58 в контрольному (ix) (групі) пацієнта (iv) (див. вище), що відповідає одиниці $\log_2(\text{nRPKM})$ 5,3 (усереднена експресія CD58 в контрольному (ix) (групі) пацієнта (iv)). Іншими словами, експресія CD58 у пацієнта, який підлягає лікуванню відповідно до даного винаходу може бути суттєво нижчою, ніж експресія CD58 в контрольному (ix) (групі) пацієнта (iv), що відповідає одиниці $\log_2(\text{nRPKM})$ 5,3. Таким чином, експресія CD58 у пацієнта, який підлягає лікуванню відповідно до даного винаходу, може представляти собою експресію CD58, що відповідає одиниці $\log_2(\text{nRPKM}) \leq 5,2, \leq 5,1, \leq 5,0, \leq 4,5, \leq 4,0, \leq 3,5, \leq 3,0, \leq 2,5$ або $\leq 2,0$.

Як вказано вище, CD58 експресується на пухлинних клітинах та на поверхні В-клітин. Таким чином, в одному переважному аспекті, "низька експресія CD58" та "знижений рівень" експресії CD58, відповідно, згідно із даним винаходом означає, що CD58 експресується на пухлинних клітинах та/або В-клітинах на рівні, який суттєво нижчий, ніж експресія CD58 на звичайних DLBCL пухлинних клітинах та/або звичайні DLBCL В-клітини. "Звичайні DLBCL" в даному контексті, наприклад, означають, що пухлинні клітини та В-клітини, відповідно, мають походження із не-респондера відповідно до даного винаходу, переважно із DLBCL пухлинних клітин та DLBCL В-клітин, відповідно, мають походження із DLBCL пацієнта, який не класифікований як пацієнт, визначений в даній заявці.

Наприклад, "низька експресія CD58" та (суттєво) "знижений рівень" експресії CD58, відповідно, згідно із даним винаходом означає, що CD58 експресується на рівні, який є принаймні на 10 % нижчий, принаймні на 20 % нижчий, принаймні на 30 % нижчий, принаймні на 40 % нижчий, принаймні на 50 % нижчий, принаймні на 75 % нижчий, або принаймні на 100 % нижчий, зокрема, в порівнянні із експресією CD58 в підходящому контролі (наприклад, звичайний DLBCL пацієнт/популяція; не-"пацієнт, визначений в даній заявці"). Це застосовується до обох параметрів, експресія гена та експресія білка.

Мутації, особливо CD58 мутації, можуть бути ідентифіковані, наприклад, за допомогою використання панелі FoundationOne® Heme (FON) (див., наприклад, He, Blood 127(24), 2017, 3004-14; див. також приклади реалізації заявленого винаходу).

Приклади генетичних мутацій в CD58, які можуть бути присутні (та виявлені) у пацієнта, як визначено в даній заявці укорочені варіанти мутацій та/або варіанти числа копій.

Кваліфікований фахівець в даній галузі техніки легко може вибрати підходящий зразок для застосування при оцінці/виявленні експресії CD58 або (а) мутації (й) CD58 відповідно до даного винаходу (або як тестований зразок або як контрольний зразок).

Переважним прикладом зразка для застосування в контексті даного винаходу (або як тестований зразок або як контрольний зразок) для оцінки/ виявлення, чи має місце низька експресія CD58 є зразок (наприклад, біопсії) (CD58-експресуючої) пухлини та/або зразок (наприклад, біопсії), який містить (CD58-експресуючі) В-клітини.

Переважним прикладом зразка для застосування в контексті даного винаходу (або як тестований зразок або як контрольний зразок) для оцінки/ виявлення чи існує (ють) (а) мутація (ї) CD58 є зразок ДНК.

В одному аспекті/варіанті здійснення винаходу (аспект/варіант здійснення Г), пацієнт, визначений в даній заявці (який піддається лікуванню із застосуванням обінутузумабу) представляє собою пацієнта із/який страждає від сильних-GCB DLBCL.

Відповідно до даного винаходу, пацієнт із/який страждає від сильних-GCB DLBCL може бути ідентифікований шляхом визначення (зваженої) експресії (набору генів, що містить) один або декілька (переважно всі) гени TNFRSF13B, LIMD1, IRF4, CREB3L2, PIM2, CYB5R2, RAB7L1 та CCDC50 (гени, понадекспресовані в ABC DLBCL); та MME, SERPINA9, ASB13, MAML3, ITPKB, MYBL1 та S1PR2 (гени, понадекспресовані в GCB DLBCL).

Більш переважно, пацієнт із/який страждає від сильних-GCB DLBCL може бути визначений як пацієнт, який має пухлину з певною (зваженою) експресією (набору генів, що містить) один або декілька, переважно всі, гени TNFRSF13B, LIMD1, IRF4, CREB3L2, PIM2, CYB5R2, RAB7L1 та CCDC50; та MME, SERPINA9, ASB13, MAML3, ITPKB, MYBL1 та S1PR2; та, необов'язково,

один або декілька, переважно всі, гени R3HDM1, WDR55, ISY1, UBXN4 та TRIM56 (конститутивні гени).

Особливо переважно охоплюється в контексті цього аспекту / варіанту здійснення винаходу, що оцінюється зважена експресія гена.

Особливо, коли оцінка лінійного передбачення (LPS), яку отримують на основі зваженої експресії набору генів, описаної в даній заявці, є нижче певного граничного значення, а саме суттєво нижче LPS граничного значення, яке звичайно присвоюється GCB DLBCL (~ <1900), то GCB DLBCL розглядається як "сильні-GCB DLBCL". Аналогічно до цього, коли зважена експресія набору генів, описана в даній заявці, відповідає зваженій експресії набору генів, як описано в даній заявці, на основі якої отримують LPS нижче певного граничного значення, а саме LPS суттєво нижче LPS граничного значення, яке звичайно присвоюється GCB DLBCL (~ <1900), то GCB DLBCL розглядається як "сильні-GCB DLBCL". Відповідно до даного винаходу, приклади переважних граничних значень, а саме отриманих LPS, які можуть застосовуватися, а саме які визначають "сильні-GCB DLBCL", представляють собою граничні значення (приблизно) ≤ 1200 , (приблизно) ≤ 1141 , (приблизно) ≤ 1100 , (приблизно) ≤ 756 , (приблизно) ≤ 750 , (приблизно) ≤ 749 , (приблизно) ≤ 745 , (приблизно) ≤ 725 або (приблизно) ≤ 699 . Переважні граничні значення становлять (приблизно) ≤ 750 , (приблизно) ≤ 749 та (приблизно) ≤ 725 . Особливо переважні граничні значення становлять (приблизно) ≤ 750 та (приблизно) ≤ 725 .

Набір генів, які застосовують відповідно до даного винаходу, а саме відповідно до визначення/ ідентифікації/ діагностування сильних-GCB DLBCL, може додатково містити один або декілька конститутивних генів, наприклад, один або декілька (переважно всі) конститутивні гени R3HDM1, WDR55, ISY1, UBXN4 та TRIM56.

Експресія одного або декількох інших генів, які застосовують, може бути нормована до експресії одного або декількох конститутивних генів, наприклад, конститутивного (их) гена (ів), як описано в даній заявці. Кваліфікований фахівець в даній галузі техніки легко зможе нормувати експресію одного або декількох із цих інших генів (та одного або декількох інших генів), які можуть міститися в наборі генів, які застосовують відповідно до даного винаходу) на основі одного або декількох конститутивних генів, наприклад, на основі одного або декількох конститутивних генів, вказаних вище. Наприклад, можна застосовувати принаймні 1, 2, 3, 4 або 5 (цих) конститутивних генів в цьому аспекті. Щодо відповідних вказівок, кваліфікований фахівець в даній галузі техніки може покладатися, наприклад, на Scott (2014 та 2015 loc. cit.).

В принципі, також можна застосовувати набір генів, який містить лише піднабір вищевказаних наборів генів відповідно до даного винаходу. Наприклад, такий піднабір може включати принаймні 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 або 19 вищевказаного повного набору генів. Незважаючи на оцінюють більше цих генів, і більша кількість є переважною.

Приклади таких піднаборів генів, який можна застосовувати відповідно до даного винаходу, представляють собою піднабори генів, які містять принаймні 1, 2, 3, 4, 5, 6 або 7 генів TNFRSF13B, LIMD1, IRF4, CREB3L2, PIM2, CYB5R2, RAB7L1 та CCDC50), принаймні 1, 2, 3, 4, 5 або 6 генів MME, SERPINA9, ASB13, MAML3, ITPKB, MYBL1 та S1PR2, або принаймні 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, або 14 генів цих двох піднаборів генів. В принципі, переважним є більша кількість генів.

Також в контексті даного винаходу охоплюється, що не лише конкретні набори генів або піднабори генів, як вказано в даній заявці, можуть бути оцінені відповідно до даного винаходу; але також (під)набори генів, які містять один або декілька додаткових генів (наприклад, 2 або більше, 3 або більше, 4 або більше, 5 або більше, 6 або більше, 7 або більше, 8 або більше, 9 або більше, 10 або більше, 20 або більше, 30 або більше, 40 або більше, 50 або більше, 60 або більше, 70 або більше, 80 або більше, 90 або більше, 100 або більше, 150 або більше, 170 або більше, або 180 або більше додаткових генів). Цей /ці додатковий (і) ген (и) можуть представляти собою, наприклад, один або декілька із (приблизно 180) генів, відомих для розділення / відрізнення GCB та ABC (та некласифіковані) DLBCL на основі їх (зваженої) експресії (див., зокрема, Lenz (N. Engl. J. Med. 359 (2), 2008, 2313-23) і також Geiss (Nature Biotechnology 26 (3), 2008, 317-25)).

Наприклад, набір генів для оцінювання відповідно до даного винаходу, може включати (принаймні 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 або 19) генів будь-яких конкретних наборів генів або піднаборів генів, вказаних вище та один або декілька додаткових генів (наприклад, 2 або більше, 3 або більше, 4 або більше, 5 або більше, 6 або більше, 7 або більше, 8 або більше, 9 або більше, 10 або більше, 20 або більше, 30 або більше, 40 або більше, 50 або більше, 60 або більше, 70 або більше, 80 або більше, 90 або більше, 100 або більше, 150 або більше, 170 або більше, або 180 або більше додаткових генів), наприклад, із

(приблизно 180) генів, відомих для розділення / відрізнення GCB та ABC (та некласифіковані) DLBCL на основі їх (зваженої) експресії (пор. Lenz та Geiss, loc. cit.).

Наприклад, один (або більше) інших генів можуть бути додано до вищеописаних наборів або піднаборів генів, наприклад, до однієї із панелей 20, 15, 8 або 7 генів, вказаних вище, або один (або більше) генів одного із вищеописаних наборів або піднаборів генів, наприклад, панелей 20, 15, 8 або 7 генів, вказаних вище, може бути замінено на один (або більше) інших генів.

Необмежувальним, але переважним, прикладом іншого гену, який може застосовуватися відповідно до аспекту/ варіанту здійснення Г, є BLC2 ген.

Приклади засобів та способів, які можна використовувати для визначення експресії, особливо зваженої експресії, вищевказаних генів відповідно до даного винаходу забезпечуються NanoString (NanoString Technologies, Inc., Seattle, WA, USA; див. також Lenz (loc. cit.) та Geiss (loc. cit.)). Необмежувальним переважним прикладом, за допомогою якого можна визначити (зважену) експресію вищевказаних генів, є аналіз NanoString Research Use Only LST. Іншим прикладом є набір TruSeq® RNA (Illumina®, Inc.). Подальші приклади описані в Wright (PNAS 100 (17), 2003, 9991-6). Також описані відомості в Wright (loc. cit.) показують загальну придатність будь-якої підходящої панелі для аналізу (зваженої) експресії гена.

Згідно із вказаними прикладами засобів та способів, які можна застосовувати для визначення (зваженої) експресії, пацієнт із/який страждає від сильних-GCB DLBCL, також може бути визначений як пацієнт, який має пухлину із (зваженою) експресією гена, що приводить до LPS нижче LPS, яке звичайно присвоюється GCB DLBCL (~ <1900; див. вище щодо прикладів відповідних граничних значень), де LPS має походження із NanoString LST, наприклад, із NanoString Research Use Only LST (NanoString Technologies, Inc., Seattle, WA, USA), як (зважена) експресія гена для генів в панелі Nanostring (або пухлина із (зваженою) експресією гена, що відповідає такій (зваженій) експресії гена). Наприклад, переважні гени, вказані вище, можуть знаходитися в панелі Nanostring.

Пацієнт із/який страждає від сильних-GCB DLBCL також може бути визначений як пацієнт, який має пухлину із (зваженою) експресією гена із/що приводить до LPS, нижче за LPS, яке звичайно присвоюється GCB DLBCL (~ <1900; див. вище щодо прикладів відповідних граничних значень), де LPS отримують в результаті СОО класифікації за допомогою профілювання (зваженої) експресії гена (наприклад, шляхом застосовування NanoString LST, як описано в даній заявці) (або пухлина із (зваженою) експресією гена, що відповідає такій (зваженій) експресії гена).

В принципі, СОО класифікація (наприклад, на сильні-, некласифіковані- та слабкі-GCB DCBCL), може ґрунтуватися на основі профілювання експресії гена, особливо профілювання зваженої експресії гена, (наприклад, використовуючи NanoString LST (такий як, наприклад, NanoString Research Use Only LST) (NanoString Technologies, Inc., Seattle, WA, USA).

В принципі, значення "LPS" відоме в даній галузі і, отже, зрозуміле для кваліфікованого фахівця в даній галузі техніки в контексті даного винаходу. Особливо, LPS відповідно до даного винаходу представляє собою безперервну змінну (середньозважене значення для експресії гена; наприклад, генів, як вказано в даній заявці, що можуть бути в Nanostring LST).

Для всіх пацієнтів, оцінюваних в GOYA, LPS знаходився в діапазоні від -1138 до 4504. Зазвичай, як вказано вище, LPS застосовують для класифікації пацієнтів на СОО підгрупи GCB DLBCL, ABC DLBCL, та некласифіковані DLBCL (див. вище та Scott 2014 та 2015 loc. cit.). Алгоритм СОО за замовчуванням використовує байєсовський підхід із GCB/ABC класифікацією на основі ≥90 % граничного значення на ймовірність існування GCB або ABC (некласифіковані служать як буфер).

Більш переважно, LPS відповідно до даного винаходу представляє зважену суму експресії генів, які застосовують для профілювання експресії гена (наприклад, вищевказаних генів, що містяться у вказаних (під-)наборах генів). Зважена сума експресії гена може бути розрахована відповідно до наступної формули (Формула I):

$$LPS(X) = \sum_j a_j X_j,$$

де X означає кожен зразок, X_j представляє собою експресію гена для гена j та a_j представляє собою коефіцієнт для гена j. (див. також Wright loc. cit.; особливо, розділи "Gene Expression Data" та "Formulation of the DLBCL Subgroup Predictor"; включені в дану заявку як посилання)

В цілому, кваліфікований фахівець в даній галузі може визначити експресію генів, зокрема, зважену експресію генів, відповідно до відомостей, розкритих у винаході. Відповідні засоби та способи відомі в даній галузі техніки і є такими, як описано, наприклад, в Wright (loc. cit.),

особливо, в розділах Gene Expression Data" та "Formulation of the DLBCL Subgroup Predictor"; включені в дану заявку як посилання. Wright (loc. cit.), наприклад, також вказують, як можна застосовувати алгоритм зваженої експресії гена та як він може бути перенесений на платформи експресії гена, такі як NanoString LST та інші. Аналогічні відомості також представлені в Lenz (loc. cit.).

В контексті класифікації сильні-GCB DLBCL відповідно до даного винаходу та, переважно, як описано вище, можна взяти до уваги наступні відомості:

Багатофакторну регресію Кокса та/(або) еластичну часткову регресію зі штрафом (альфа=0,5) можна застосовувати для оцінки ефектів лікування при застосуванні біомаркера. Моделювання для ідентифікації оптимального граничного значення, наприклад, на основі NanoString LST та відповідного LPS, для ефектів лікування можна здійснювати, використовуючи перехресну валідацію та/(або) бутстрепінг. Можна здійснювати множинну підгонку тестування шляхом оцінювання рівнів хибнопозитивних результатів (FDR), наприклад, використовуючи процедуру Бенджаміні-Нохберг (наприклад, достовірність <5 % FDR). Аналіз збагаченого шляху можна здійснювати шляхом представленості груп генів, наприклад, шляхом застосування наборів генів, визначених за допомогою MSigDB характерних ознак та/(або) маркерного набору генів спеціально вибраної FL соматичної мутації.

Зокрема, LPS граничне значення (наприклад, як описано в даній заявці в будь-якому місці) може бути визначене в (а) аналізах моделювання (аналізи), переважно в (а) мультиваріантних аналізах моделювання (аналізи).

Коректність LPS граничного значення (наприклад, як описано в даній заявці в будь-якому місці) може бути показана за допомогою бутстреп моделювання.

Крім того, замість використання специфічного зваженого алгоритму LPS, наприклад, від NanoString LST, можна застосовувати 1-ий основний компонент від результату аналізу основних компонентів, наприклад, аналізу панелі іншої експресії (наприклад, TruSeq® PPK набір (Illumina®, Inc.)), оцінюючи, наприклад, вищевказані гени (наприклад, один або декілька з ~180 генів, відомих для розділення GCB та ABC) шляхом експресії гена. Також відповідно до даного винаходу було показано, що існує дуже велика кореляція між (NanoString LST-похідним) LPS та 1-им основним компонентом.

В одному аспекті/варіанті здійснення винаходу (аспект/варіант здійснення D), пацієнт, визначений в даній заявці (який піддається лікуванню із застосуванням обінутузумабу) представляє собою пацієнта із BCL2 транслокаціями та/або високою BCL2 експресією. Переважно, BCL2 транслокований пацієнт із високою BCL2 експресією охоплюється в контексті цього аспекту/ варіанту здійснення.

Звичайно відомо, що BCL2 (див. також Zhang loc. cit.; Punnoose loc. cit.; Iqbal, Clin Cancer Res 17(24), 2011, 7785 – 95; Iqbal, JCO 24(6), 2006, 961-8; Hu, Blood 121(20), 2013, 4021 – 31; Johnson, JCO 30(28), 2012, 3452 – 67; Green, JCO 30(28), 2012, 3460-67) є антиапоптотичним білком, понадекспресія якого протидіє мітохондріальним апоптотичним шляхам. Відомо, що BCL2 експресується в пухлинах DLBCL пацієнтів.

Нуклеотидні послідовності, які кодують BCL2, та амінокислотні послідовності BCL2, зокрема Homo sapiens (людини) BCL2, добре відомі в даній галузі. Вони можуть бути скачані, наприклад, за допомогою наступного уніфікованого вказівника інформаційного ресурсу (URL) https://www.ncbi.nlm.nih.gov/search/?term=Homo+sapiens+BCL2&utm_expId=.fAeHyO5JTBGxnObh2WlrCA.0&utm_referrer=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fsearch%2F%3Fterm%3DHomo%2Bsapiens%2BBCL2. Нуклеотидні послідовності, які кодують BCL2, зокрема Homo sapiens (людини) BCL2, доступні, наприклад, за №№ доступу NCBI: XM_017025917.2 (варіант X3); XM_011526135.3 (варіант X2); XR_935248.3 (варіант X1); NM_000657.2 (варіант бета); NM_000633.2 (варіант альфа). Амінокислотні послідовності BCL2, зокрема BCL2Homo sapiens (людини), доступні, наприклад, за №№ доступу NCBI: XP_016881406.1 (ізоформа X2); XP_011524437.1 (ізоформа X1); NP_000648.2 (ізоформа бета); NP_000624.2 (ізоформа альфа). Приклад нуклеотидної послідовності, яка кодує BCL2 Homo sapiens (людини), представлений в SEQ ID NO:13. Приклад амінокислотної послідовності BCL2 Homo sapiens (людини) представлений в SEQ ID NO:14.

Як було в цілому вказано в даній заявці вище по відношенню до "експресії", в даному випадку застосовується вимірювання / виявлення (первинної) мРНК та вимірювання / виявлення білка, з необхідними змінами.

В принципі, "експресія" в контексті даного винаходу охоплює обидва поняття, експресію гена, а саме появу (первинної) мРНК (рівень транскрипції), та експресію білка, а саме появу білка (рівень трансляції).

В цілому, засоби та способи для вимірювання / визначення експресії BCL2 та BCL2 транслокації відомі в даній галузі техніки і є такими, як описано, наприклад, в Zhang (loc. cit.) та Punnoose (loc. cit.). Крім того, кваліфікований фахівець в даній галузі техніки легко може оцінити, чи дана експресія BCL2 є „високою” відповідно до даного винаходу або чи існує (ють)

5 (а) BCL2 транслокація (і) відповідно до даного винаходу. Крім того, кваліфікований фахівець в даній галузі техніки легко може вибрати підходящий контроль в порівнянні з яким дана експресія BCL2 розглядається як "вища" відповідно до даного винаходу або в порівнянні із тією, яка розглядається як існуюча (і) (а) BCL2 транслокація (і) відповідно до даного винаходу. В даному контексті, кваліфікований фахівець в даній галузі техніки також може ґрунтуватися, наприклад,

10 на Zhang (loc. cit.) та Punnoose (loc. cit.).

Експресія BCL2 може бути оцінена, наприклад, за допомогою аналізу Ventana імуногістохімії (IHC), наприклад, шляхом дослідницького застосування Ventana аналізу IHC (BCL2 антитіло клон 124) (відповідно до інструкцій виробника). Наприклад, висока експресія BCL2 може бути визначена в даному контексті як помірна або сильне фарбування в ≥ 50 % пухлинних клітин

15 (див. нижче для більш докладних відомостей).

Експресію BCL2 білка/появу BCL2 білка також можна виміряти/виявити як описано в Punnoose (loc. cit.), Iqbal (2011 та 2006 loc. cit.), Hu (loc. cit.), Johnson (loc. cit.), Green (loc. cit.).

Експресія гена/ поява (первинної) мРНК, зокрема, експресія BCL2 гена/поява (первинної) мРНК BCL2 може бути оцінена, наприклад, як описано в Zhang (loc. cit.) або шляхом використання TruSeq® РНК секвенування (Illumina®, Inc.) відповідно до інструкцій виробника).

20

В контексті даного винаходу, "висока експресія BCL2" означає, що BCL2 експресується на суттєво вищому рівні, особливо в порівнянні із підходящим контролем. В цілому, "висока експресія BCL2" відповідно до даного винаходу означає, що експресія BCL2 є настільки високою (наприклад, ± 10 % або менше, $\pm 7,5$ % або менше, ± 5 % або менше, ± 3 % або менше, ± 2 %

25 або менше, ± 1 % або менше або навіть ± 0 %), як і експресія BCL2 у респондера відповідно до даного винаходу (а саме пацієнт, який відповідає на лікування із застосуванням обінутузумабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з СНОР хіміотерапією) шляхом досягнення поліпшеного клінічного результату в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з СНОР хіміотерапією); "пацієнт, визначений в даній заявці") та/або вище, ніж експресія BCL2 в не-респондера відповідно до даного винаходу (а саме пацієнт, який відповідає на лікування із застосуванням обінутузумабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з СНОР хіміотерапією) шляхом недосягнення поліпшеного клінічного результату в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з СНОР хіміотерапією); не-"пацієнт, визначений в даній заявці"). Фахівець в даній галузі легко може оцінити, чи експресія BCL2 є "високою" в цьому аспекті та застосувати підходящий контроль. Наприклад, контроль в цьому аспекті може представляти собою звичайну DLBCL популяцію, більш переважно DLBCL пацієнти, які не класифіковані як належать до підгрупи пацієнтів, класифікованих відповідно до даного винаходу

30 (не-"пацієнт, визначений в даній заявці"). "Висока експресія BCL2" може представляти собою експресію BCL2 вищу, ніж середня експресія BCL2 в контрольній групі, наприклад, в таких вищевказаних контрольних групах. Наприклад, "висока експресія BCL2" та "вищий рівень" експресії BCL2, відповідно, згідно із даним винаходом може представляти собою експресію BCL2, яка вища, ніж середня експресія BCL2 серед пацієнтів, оцінюваних в GOYA.

Прикладом контролю, на основі якого можна розглядати в контексті даного винаходу, чи є експресія BCL2 "високою", є нормальна, а саме не-пухлинна, тканина, більш переважно нормальна, а саме не-пухлинна, лімфатична тканина. Тканина може бути із DLBCL пацієнта. Наприклад, вона може бути із DLBCL пацієнта, який піддається лікуванню. Однак, в принципі, також тканина може бути від нормального / здорового суб'єкта.

45

Переважний приклад контролю, на основі якого можна розглядати в контексті даного винаходу, чи є експресія BCL2 "високою", є тканина пухлини, більш переважно тканина лімфатичної пухлини із не-респондера відповідно до даного винаходу (не-"пацієнт, визначений в даній заявці"). Переважно, коли тканина є від не-відповідаючого DLBCL пацієнта (не-"пацієнт, визначений в даній заявці", який представляє собою DLBCL пацієнта).

50

Експресія BCL2 розглядається як "висока", якщо, наприклад, ≥ 30 %, ≥ 40 %, ≥ 50 % або ≥ 60 % пухлинних клітин експресують BCL2 (наприклад, проявляє BCL2 фарбування в IHC аналізі), зокрема, проявляє від помірної до сильної експресії BCL2 (наприклад, проявляє від помірного до сильного BCL2 фарбування в IHC дослідженні).

55

Є переважним в контексті даного винаходу, що експресія BCL2, зокрема "висока" експресія BCL2, включає обидва параметри, відсоток пухлинних клітин, які експресують BCL2, та інтенсивність експресії BCL2 в цих клітинах.

При оцінюванні, чи дана експресія BCL2 є "високою" відповідно до даного винаходу, кваліфікований фахівець в даній галузі техніки також може покладатися на Iqbal (2011 та 2006 loc. cit), Hu (loc. cit.), Johnson (loc. cit.) та Green (loc. cit.).

Більш загально, "висока експресія BCL2" та (суттєво) "вищий рівень" експресії BCL2, відповідно, згідно із даним винаходом означає, що BCL2 експресується на рівні, який є принаймні на 10 % вищий, принаймні на 20 % вищий, принаймні на 30 % вищий, принаймні на 40 % вищий, принаймні на 50 % вищий, принаймні на 75 % вищий, або принаймні на 100 % вищий, особливо в порівнянні із експресією BCL2 в підходящому контролі (наприклад, звичайний DLBCL пацієнт/популяція; не-пацієнт, визначений в даній заявці"). Це застосовується до обох параметрів, експресія гена та експресія білка.

Значення "(а) BCL2 транслокація (і)" добре відомо в даній галузі техніки. Типово, "BCL2 транслокація" представляє собою злиття генів BCL2 та IgH (задіюючи хромосоми 14 та 18). BCL2 транслокація (і) описані, наприклад, в Zhang (loc. cit.)

BCL2 транслокації можуть бути оцінені / виявлені, наприклад, за допомогою використання BCL2 Dual Color Break Apart технології (Vysis, Abbott Molecular), особливо, за допомогою Vysis LSI Dual Color Break Apart FISH зондів, (наприклад, із (FISH) граничним значенням на рівні 5 % (типово застосовують) або 50 %); як вказано в інструкції виробника.

BCL2 транслокації також можна оцінити / виявити за допомогою Foundation Medicine секвенування наступного покоління, FoundationOne® Heme (як вказано в інструкції виробника; див. також He loc. cit.).

Засоби та способи для оцінки/ виявлення BCL2 транслокації відомі в даній галузі техніки і є такими, як описано, наприклад, в Zhang loc. cit.) та He (loc. cit.).

Кваліфікований фахівець в даній галузі техніки легко може вибрати підходящий зразок для застосування при оцінці/виявленні (а) BCL2 транслокації (й) або експресії BCL2 відповідно до даного винаходу (або як тестований зразок або як контрольний зразок).

Переважним прикладом зразка для застосування в контексті даного винаходу (або як тестований зразок або як контрольний зразок) для оцінки/ виявлення, чи має місце висока BCL2 експресія в зразку (наприклад, біопсії) (BCL2-експресуючої) пухлини.

Переважним прикладом зразка для застосування в контексті даного винаходу (або як тестований зразок або як контрольний зразок) для оцінки/ виявлення чи існує (ють) BCL2 транслокація (і) є зразок ДНК.

В одному аспекті/варіанті здійснення винаходу (аспект/варіант здійснення Е), пацієнт, визначений в даній заявці (який піддається лікуванню із застосуванням обінутузимабу) визначають шляхом комбінації / перекриття будь-яких 2, будь-яких 3, будь-яких 4 або будь-яких 5 визначень пацієнтів, які представлені в аспектах / варіантах здійснення А, Б, В, Г та Д вище. Тобто, пацієнт може бути визначений шляхом комбінації / перекриття визначень пацієнтів, які представлені в аспектах / варіантах здійснення А та Б; А та В; А та Г; А та Д; Б та В; Б та Г; Б та Д; В та Г; В та Д; А, Б та В; А, В та Г; А, Г та Д; А, Б та Г; А, Б та Д; А, В та Д; Б, В та Г; Б, В та Д; Б, Г та Д; В, Г та Д; А, Б, В та Г; А, В, Г та Д; Б, В, Г та Д; та А, Б, Г та Д. Переважними є комбінації / перекриття, які включають визначення відповідно до аспектів / варіантів здійснення Г та Д.

В одному аспекті/варіанті здійснення винаходу (аспект/варіант здійснення Є), пацієнт, визначений в даній заявці (який піддається лікуванню із застосуванням обінутузимабу), визначається за допомогою комбінації / перекриття визначень пацієнтів, як вказано в аспектах / варіантах здійснення Г та Д (або А, Г та Д), вище. Таким чином, пацієнт, визначений в даній заявці відповідно до цього аспекту /варіанту здійснення, представляє собою пацієнта (І) із/який страждає від сильних-GCB DLBCL; та (ІІ) із BCL2 транслокаціями та/або високою BCL2 експресією. Ця комбінація / перекриття визначень пацієнтів визначає переважного пацієнта, визначеного в даній заявці.

В цілому, як застосовують в контексті даного винаходу, необмежувальним прикладом "контролю" переважно є "не-респондерний" контроль, наприклад, зразок/ клітина/ тканина, отриманий (і) від одного або декількох пацієнтів, які не страждають від конкретного DLBCL, як описано в даній заявці (не-пацієнт, визначений в даній заявці") та відомо, що сприятливо на відповідають на обінутузимаб (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією) в порівнянні із ритуксимабом (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією) відповідно до даного винаходу. Іншим прикладом для "не-респондерного" контролю є клітинна лінія /зразок/ клітина/

тканина, яке не проявляє поліпшеної відповіді на обінутумаб (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією) в порівнянні із ритуксимабом (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією) в тесті ex-vivo. Іншим необмежувальним прикладом "контролю" є "внутрішній стандарт", наприклад, очищені або синтетично продукуювані білки, пептиди, ДНК та/або РНК, або їх суміш, де кількість кожного білка / пептиду / ДНК /РНК вивіряється шляхом застосування "не-респондерного" контролю, описаного в даній заявці.

В принципі, пацієнт, який піддається лікуванню в контексті даного винаходу, представляє собою DLBCL пацієнта. Іншими словами, пацієнт представляє собою пацієнта із/який страждає від DLBCL. Таким чином, переважно передбачається, що також пацієнт, визначений відповідно до будь-якого із аспектів / варіантів здійснення А, Б, В, Г, Д, Е, Є, вище, представляє собою DLBCL пацієнта та пацієнта із/який страждає від DLBCL, відповідно. Однак, не є обов'язковою умовою, щоб даний пацієнт був діагностований як DLBCL пацієнт, наприклад, перед (або після) визначення / ідентифікації / діагностування як пацієнт, як описано в даній заявці, зокрема, як визначено в одному (або більше) із аспектів / варіантів здійснення А - Є, вище. Проте є переважним, що пацієнт, який піддається лікуванню відповідно до даного винаходу є діагностований, на першій стадії, як DLBCL пацієнт, або принаймні як пацієнт із лімфоною, та, на другій стадії, визначений / ідентифікований / діагностований як пацієнт, визначений в даній заявці, зокрема, пацієнт, як визначено в одному (або більше) із аспектів / варіантів здійснення А -Є, вище. В принципі, відповідно до даного винаходу, даний пацієнт може бути, на першій стадії, також визначений / ідентифікований / діагностований як пацієнт, визначений в даній заявці, та, на другій стадії, діагностований як DLBCL пацієнт, або принаймні як пацієнт із лімфоною. Однак, остання опція є менш переважною та, як сказано, (вказана вище або наступна) стадія діагностування, чи пацієнт, який піддається лікуванню, представляє собою (DLBC)L пацієнта, також може бути пропущена.

Необмежувальним прикладом шляху, як лікуючий лікар буде вибирати, чи даний пацієнт піддається лікуванню відповідно до даного винаходу, представлено далі:

Від пацієнта, наприклад, із аномально підвищеною клінічною настороженістю лімфоми (наприклад, збільшені лімфовузли), може бути відібраний зразок (пухлини) (наприклад, біопсія (пухлини)). Зразок (пухлини) може бути діагностований як (DLBC)L позитивний (наприклад, патологоанатомом). Це можна здійснити за допомогою однієї із 2 двох стадій, вказаних вище.

Як вказано, ця стадія може бути пропущена.

Із (залишку) зразка (пухлини) (наприклад, тканини / біопсії (пухлини)), або із іншого зразка (пухлини) того ж самого або іншого пацієнта, або від іншої пухлини того самого або іншого пацієнта, може бути екстрагований білок, РНК (наприклад, (первинна) мРНК) та/або ДНК. Після цього пацієнт, визначений в даній заявці, може бути визначений / ідентифікований / діагностований, а саме після цього може (уть) бути здійснений (і) біомаркерний аналіз / аналізи відповідно до даного винаходу, із відібраним білкою, РНК (наприклад, (первинною) мРНК) та/або ДНК. Наприклад, зразки можна аналізувати за допомогою аналізу зваженої експресії генів (наприклад, шляхом застосування NanoString LST), для одержання LPS, тестування щодо (а) генетичної (их) мутації (й) в CD58 та/або щодо низької експресії CD58 та/або тестування щодо BCL2 транслокацій та/або щодо високої BCL2 експресії. Після цього результати аналізу /аналізів надають можливість класифікації пацієнта в DLBCL підгрупи, визначені відповідно до даного винаходу. Іншими словами, після цього результати аналізу /аналізів надають можливість класифікації, чи пацієнт представляє собою "пацієнта, визначеного в даній заявці".

Це може бути здійсненого за допомогою іншої однієї із 2 двох стадій, вказаних вище (а саме обов'язкова стадія).

Можна застосовувати необмежувальні приклади біомаркерного аналізу / аналізів відповідно до даного винаходу згідно із наступним:

Зразок пухлини, наприклад, діагностичний зразок пухлини, (наприклад, біопсія тканини), наприклад, зафіксований у формаліні та/або залитий у парафін, може бути відібраний від пацієнта. РНК (або білок або ДНК) може бути екстрагована та може бути проаналізована експресія гена щодо класифікація сильні-GCB, CD58 транслокації/низької експресії та/або BCL2 мутації (й)/ низької експресії. ДНК може бути екстрагована для оцінки (а) мутації (й) CD58. Зрізи тканин, переважно зрізи пухлинних тканин, можуть бути висічені та залиті, наприклад, для аналізів IHC та/або (F)ISH.

Як вказано, в контексті даного винаходу охоплюється застосування обінутумабу, або функціонального еквіваленту обінутумабу, для лікування пацієнта, визначеного в даній заявці.

Обінутузумаб сам добре відомий в даній галузі техніки та описаний, наприклад, в EP-B1 2380910 та WO 2005/044859. Див. нижче для більш докладних відомостей щодо самого обінутузумабу.

Також значення "функціональний еквівалент обінутузумабу" очевидне для кваліфікованого фахівця в даній галузі техніки. Особливо, термін "функціональний еквівалент обінутузумабу" стосується антитіла, переважно гуманізованого антитіла типу II до CD20, яке є більш підходящим для лікування (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з СНОР хіміотерапією) пацієнта, визначеного в даній заявці, ніж ритуксимаб (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з СНОР хіміотерапією). Іншими словами, цей термін стосується антитіла, переважно антитіла людини типу II до CD20, із характерними особливостями та способами дії (МОА), що надають антитілу здатності для лікування пацієнта, визначеного в даній заявці, таким чином, що він відповідає шляхом досягнення поліпшеного клінічного результату в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу. Більш переважно, термін "функціональний еквівалент обінутузумабу" стосується антитіла, переважно антитіла типу II до CD20, яке має такі самі характерні особливості та біологічні функції, як і сам обінутузумаб, зокрема, такі самі біологічні функції, як і сам обінутузумаб, які надають антитілу більшу придатність для лікування пацієнта, визначеного в даній заявці, в порівнянні із ритуксимабом.

Приклади найбільш релевантних характерних особливостей та МОА еквіваленту обінутузумабу відповідно до даного винаходу (та самого обінутузумабу) представлені в даній заявці в будь-якому місці. Вони легко можуть бути визначені кваліфікованим фахівцем в даній галузі техніки.

В принципі, в контексті даного винаходу охоплюється, що термін "функціональний еквівалент обінутузумабу" також стосується біоналогів обінутузумабу. Особливо, передбачається, що значення терміну також охоплює будь-який біоналог обінутузумабу, який є більш підходящим для лікування пацієнта, визначеного в даній заявці в порівнянні із ритуксимабом. Іншими словами, "функціональний еквівалент обінутузумабу" може представляти собою біоналог обінутузумабу, який здатний лікувати пацієнта, визначеного в даній заявці таким чином, що він відповідає шляхом досягнення поліпшеного клінічного результату в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з СНОР хіміотерапією).

В цілому, значення "біоналог" добре відоме в даній галузі техніки. В даному контексті, "біоналог" представляє собою біологічний медичний продукт, який є практично ідентичною копією оригінального біологічного медичного продукту та також відомий як біоподібний фармпрепарат або біопрепарат, зареєстрований після оригінального препарату. Біоналоги представляють собою офіційно затверджені версії оригінальних "винахідницьких" продуктів. В даному контексті, можна навести посилання, наприклад, на директиву ЕМЕА щодо подібних біологічних медичних продуктів (CHMP/437/04 London, 2005).

В контексті даного винаходу, обінутузумаб, зокрема функціональний еквівалент обінутузумабу, представляє собою антитіло, переважно гуманізоване антитіло II типу до CD20, яке включає

(а) варіабельну ділянку важкого ланцюга, як представлено в SEQ ID NO:1 та варіабельну ділянку легкого ланцюга, як представлено в SEQ ID NO:2 (ця варіабельна ділянка легкого ланцюга також відома як KV1 варіабельна ділянка легкого ланцюга; "KV1" означає гуманізовану варіабельну ділянку легкого ланцюга мишиного B-Ly1 моноклонального антитіла; див. EP-B1 2380910);

(б) варіабельну ділянку важкого ланцюга, яка має залишки, що визначають специфічність, варіабельної ділянки важкого ланцюга (а) та варіабельну ділянку легкого ланцюга, яка має залишки, що визначають специфічність, варіабельної ділянки легкого ланцюга (а); або

(в) варіабельну ділянку важкого ланцюга, яка кодується послідовністю нуклеїнової кислоти, яка є принаймні на 80 %, принаймні 85 %, принаймні 90 %, принаймні 95 %, принаймні 98 % або принаймні 99 % ідентична до SEQ ID NO: 3 та варіабельну ділянку легкого ланцюга, яка кодується послідовністю нуклеїнової кислоти, яка є принаймні на 80 %, принаймні 85 %, принаймні 90 %, принаймні 95 %, принаймні 98 % або принаймні 99 % ідентична до SEQ ID NO: 4 (вищі значення є переважними).

Є переважним, що обінутузумаб, зокрема, функціональний еквівалент обінутузумабу, який застосовуються в контексті даного винаходу, представляє собою моноклональне антитіло, зокрема, моноклональне гуманізоване антитіло II типу до CD20.

Є особливо переважним, що антитіло, які застосовують відповідно до даного винаходу представляє собою антитіло II типу до CD20, зокрема, особливо, гуманізоване моноклональне

антитіло II типу до CD20, або, переважно та, антитіло, яке включає Fc ділянку з модифікованою схемою глікозилювання, переважно, Fc ділянку з модифікованою схемою глікозилювання, як описано в даній заявці нижче. Є додатково переважно, що, відповідно до даного винаходу, таке антитіло, або будь-яке інше антитіло, які застосовують відповідно до даного винаходу, проявляє суттєво вищі рівні ADCC активності, особливо, в порівнянні із порівнюваним антитілом типу I до CD20 та/або в порівнянні із антитіло із не-з модифікованою схемою глікозилювання (наприклад, ритуксимабом).

Значення антитіло до CD20 "типу II" добре відомо в даній галузі техніки. В цілому, моноклональні антитіла до CD20 розділяються на дві різні категорії на основі їх механізму дії на ерадикацію клітин лімфоми. Антитіла до CD20 типу I в основному використовують комплемент для зниження цільових клітин, тоді як антитіла типу II функціонують за різними механізмами, головним чином апоптозу. Ритуксимаб та 1F5 є прикладами антитіл типу I до CD20, тоді як B 1 є прикладом антитіла типу II. Див., наприклад, Cragg (Blood 103(7), 2004, 2738-2743); Teeling (Blood 104(6), 2004, 1793-1800), повний зміст яких таким чином включено в дану заявку як посилання. Також сам обінутузумаб представляє собою антитіло II типу. Див., наприклад, EP-B1 2380910 та WO 2005/044859, повний зміст яких таким чином включено в дану заявку як посилання.

Кваліфікований фахівець в даній галузі техніки знає, або принаймні легко зможе визначити, релевантні залишки, які визначають специфічність, варіабельних ділянок важкого та легкого ланцюгів обінутузумабу. Як відповідний посібник, кваліфікований фахівець в даній галузі техніки може спиратися, наприклад, на EP-B1 2380910 та WO 2005/044859.

В одному аспекті, передбачається, обінутузумаб/ функціональний еквівалент обінутузумабу, як застосовується в контексті даного винаходу, переважно, як визначено в (б) та (в), вище, має, зокрема, одну або декілька наступних характерних ознак:

(I) здатність індукувати вищі рівні апоптозу при інкубуванні із CD20-позитивними людськими клітинами відносно контролю в ідентичних умовах, використовуючи ритуксимаб;

(II) здатність викликати підвищене знищення В-клітинами CD20⁺ пухлин в порівнянні із ритуксимабом;

(III) здатність викликати підвищену безпосередню загибель клітин в порівнянні із ритуксимабом (не бажаючи обмежуватися теорією, це обумовлено альтернативною геометрією зв'язування (наприклад, ліктова шарнірна модифікація));

(IV) здатність викликати знижену комплементзалежну цитотоксичність (CDC) в порівнянні із ритуксимабом (не бажаючи обмежуватися теорією, це обумовлено альтернативною геометрією зв'язування (наприклад, ліктева шарнірна модифікація));

(V) здатність викликати підвищену антитілозалежну клітинну цитотоксичність (ADCC) в порівнянні із ритуксимабом (не бажаючи обмежуватися теорією, це обумовлено Fc ділянкою з модифікованою схемою глікозилювання);

(VI) здатність викликати підвищений антитілозалежний клітинний фагоцитоз (ADCP) в порівнянні із ритуксимабом (не бажаючи обмежуватися теорією, це обумовлено Fc ділянкою з модифікованою схемою глікозилювання);

(VII) підвищену афінність до FcγRIII рецепторів в порівнянні із ритуксимабом (не бажаючи обмежуватися теорією, це обумовлено Fc ділянкою з модифікованою схемою глікозилювання);

(VIII) здатність запускати, при зв'язуванні із CD20, меншу інтерналізацію поверхневого CD20 в порівнянні із ритуксимабом.

В іншому аспекті, передбачається, що обінутузумаб/ функціональний еквівалент обінутузумабу, як застосовується в контексті даного винаходу, переважно, як визначено в (б) та (в), вище, проявляє, зокрема, одну або більше із наступних MOA:

(I) здатність індукувати вищі рівні апоптозу при інкубуванні із CD20-позитивними людськими клітинами відносно контролю в ідентичних умовах, використовуючи ритуксимаб;

(III) здатність викликати підвищену безпосередню загибель клітин в порівнянні із ритуксимабом (не бажаючи обмежуватися теорією, це обумовлено альтернативною геометрією зв'язування (наприклад, ліктева шарнірна модифікація));

(IV) здатність викликати знижену комплементзалежну цитотоксичність (CDC) в порівнянні із ритуксимабом (не бажаючи обмежуватися теорією, це обумовлено альтернативною геометрією зв'язування (наприклад, ліктева шарнірна модифікація));

(V) здатність викликати підвищену антитілозалежну клітинну цитотоксичність (ADCC) в порівнянні із ритуксимабом (не бажаючи обмежуватися теорією, це обумовлено Fc ділянкою з модифікованою схемою глікозилювання);

(VI) здатність викликати підвищений антитілозалежний клітинний фагоцитоз (ADCP) в порівнянні із ритуксимабом (не бажаючи обмежуватися теорією, це обумовлено Fc ділянкою з

модифікованою схемою глікозилування);

(VII) підвищену афінність до FcγRIII рецептори в порівнянні із ритуксимабом (не бажаючи обмежуватися теорією, це обумовлено Fc ділянкою з модифікованою схемою глікозилування);

5 (VIII) здатність запускати, при зв'язуванні із CD20, меншу інтерналізацію поверхневого CD20 в порівнянні із ритуксимабом.

Засоби та способи, які можна застосовувати для визначення релевантних характерних ознак антитіл, які застосовують відповідно до даного винаходу (наприклад, біологічні функції, MOA) добре відомі в даній галузі та легко можуть бути застосовані кваліфікованим фахівцем в даній галузі техніки.

10 Засоби та способи, які можна застосовувати для визначення рівня апоптозу, переважно, чи дане антитіло здатне індукувати вищі рівні апоптозу при інкубуванні із CD20-позитивними людськими клітинами відносно контролю в ідентичних умовах, використовуючи ритуксимаб, відомі в даній галузі техніки і є такими, як описано, наприклад, в EP-B1 2380910 та WO 2005/044859.

15 "Вищий рівень апоптозу" відповідно до даного винаходу означає, наприклад, принаймні в 1,2-рази вищий, принаймні в 1,5-рази вищий, принаймні в 2-рази вищий, принаймні в 3-рази вищий, принаймні в 4-рази вищий, принаймні в 5-разів вищий, або принаймні в 10-разів вищий в порівнянні із рівнем апоптозу, який виникає внаслідок порівняного застосування ритуксимабу.

20 Засоби та способи, які можна застосовувати для визначення знищення В-клітинами CD20⁺ пухлин, зокрема, чи має місце підвищення знищення В-клітинами CD20⁺ пухлин в порівнянні із ритуксимабом, відомі в даній галузі техніки і описані, наприклад, в EP-B1 2380910 та WO 2005/044859.

25 Відповідно до даного винаходу, знищення В-клітинами CD20⁺ пухлин "підвищено", якщо воно, наприклад, принаймні в 1,2-рази вище, принаймні в 1,5-рази вище, принаймні в 2-рази вище, принаймні в 3-рази вище, принаймні в 4-рази вище, принаймні в 5-разів вище, або принаймні в 10-рази вище в порівнянні із знищенням В-клітинами CD20⁺ пухлин, яка виникає внаслідок порівняного застосування ритуксимабу.

30 Засоби та способи, які можна застосовувати для визначення безпосередньої загибелі клітин, зокрема, чи має місце підвищення безпосередньої загибелі клітин в порівнянні із ритуксимабом, відомі в даній галузі техніки і описані, наприклад, в EP-B1 2380910 та WO 2005/044859.

35 Відповідно до даного винаходу, безпосередня загибель клітин "підвищена", якщо вона принаймні в 1,2-рази вища, принаймні в 1,5-рази вища, принаймні в 2-рази вища, принаймні в 3-рази вища, принаймні в 4-рази вища, принаймні в 5-разів вища або принаймні в 10-разів вища в порівнянні із безпосередня загибель клітин, яка виникає внаслідок порівняного застосування ритуксимабу.

40 Засоби та способи, які можна застосовувати для визначення CDC, переважно, чи має місце знижена CDC в порівнянні із ритуксимабом, відомі в даній галузі техніки і описані, наприклад, в Herter (loc. cit.), Mössner (loc. cit.), EP-B1 238090, WO 2005/044859, WO 2015/067586 та WO 2016/207312.

Відповідно до даного винаходу, CDC "знижена", якщо вона, наприклад, принаймні в 1,2-рази нижча, принаймні в 1,5-рази нижча, принаймні в 2-рази нижча, принаймні в 3-рази нижча, принаймні в 4-рази нижча, принаймні в 5-разів нижча, або принаймні в 10-разів нижча в порівнянні із CDC, яке виникає внаслідок порівняного застосування ритуксимабу.

45 Термін "комплементзалежна цитотоксичність (CDC)" стосується лізису пухлинних клітин-мішеней людини за допомогою антитіла, яке застосовують відповідно до винаходу в присутності комплементу. CDC переважно вимірюються шляхом лікування препаратом CD20 експресуючих клітин із антитілом до CD20, які застосовують відповідно до винаходу в присутності комплементу. CDC виявляється, якщо антитіло індукує, наприклад, при концентрації 100 нМ, лізис (загибель клітин), наприклад, 20 %, або більше пухлинних клітин через, наприклад, 4 години. Дослідження переважно здійснюють із ⁵¹Cr або Eu міченими пухлинними клітинами та вимірюють вивільнення ⁵¹Cr або Eu. Контролі включають інкубування пухлинних клітин-мішеней із комплементом із ритуксимабом та, необов'язково, без антитіла.

50 Кваліфікований фахівець в даній галузі техніки легко зможе адаптувати цей конкретний приклад CDC аналізу таким чином, що він буде здатним тестувати, чи знижується CDC активність при застосуванні антитіла відповідно до даного винаходу в порівнянні із застосуванням ритуксимабу, залежно від обставин.

55 Засоби та способи, які можна застосовувати для визначення ADCC, зокрема, чи має місце підвищення ADCC в порівнянні із ритуксимабом, відомі в даній галузі техніки і описані, наприклад, в Herter (loc. cit.), Mössner (loc. cit.), Tobinai (Adv. Ther. 34, 2017, 324–56), EP-B1

2380910, WO 2005/044859, WO 2015/067596 та WO 2016/207312.

Відповідно до даного винаходу, ADCC, більш загально, є "підвищено", якщо вона є, наприклад, принаймні в 1,2-рази вища, принаймні в 1,5-рази вища, принаймні в 2-рази вища, принаймні в 3-рази вища, принаймні в 4-рази вища, принаймні в 5-разів вища, або принаймні в 10-разів вища в порівнянні із ADCC, яка виникає внаслідок порівняного застосування ритуксимабу.

Одним із необмежувальних, прийнятих *in vitro* ADCC досліджень є наступне:

1) в дослідженні використовують цільові клітини, які, як відомо, експресують цільовий антиген, що розпізнається антиген-зв'язувальною ділянкою антитіла (CD20);

2) в дослідженні використовують моноклеарні клітини периферичної крові людини (PBMC), виділені із крові вибраного довільно здорового донора, як ефекторні клітини;

3) дослідження здійснюють відповідно до наступного протоколу:

I) PBMC виділяли, використовуючи стандартні процедури центрифугування в градієнті щільності та суспендували при 5×10^6 клітин/мл в RPMI середовищі для культивування клітин;

II) цільові клітини вирощували за допомогою стандартних методів культивування тканин, збирали із експоненціальної фази росту із життєздатністю, вищою, ніж 90 %, промивали в RPMI середовищі для культивування клітин, мітили за допомогою 100 мікро Кі ^{51}Cr , два рази промивали із середовищем для культивування клітин, та ресуспендували в середовищі для культивування клітин при щільності 10^5 клітин/мл;

III) 100 мікролітрів кінцевої суспензії цільових клітин вище переносили в кожну лунку мікротитрувального планшета на 96 лунок;

IV) антитіло серійно розводили від 4000 нг/мл до 0,04 нг/мл в середовищі для культивування клітин та 50 мікролітрів отриманих розчинів антитіла додавали до цільових клітин в мікротитрувальний планшет на 96 лунок, тестуючи в трьох повторах варіації концентрацій антитіла, які охоплюють весь діапазон концентрацій, вказаний вище;

V) для контролів максимального вивільнення (MR), 3 додаткові лунки в планшеті, що містили мічені цільові клітини, отримували 50 мікролітрів 2 % (VN) водного розчину неіонного детергенту (Nonidet, Sigma, St. Louis), замість розчину антитіла (абзац IV вище);

VI) для контролів спонтанного вивільнення (SR), 3 додаткові лунки в планшеті, що містили мічені цільові клітини, отримували 50 мікролітрів RPMI середовища для культивування клітин замість розчину антитіла (абзац IV вище);

VII) після цього мікротитрувальний планшет на 96 лунок центрифугували при $50 \times g$ протягом 1 хвилини та інкубували протягом 1 години при 4°C ;

VIII) 50 мікролітрів PBMC суспензії (абзац I вище) додавали в кожну лунку, одержуючи співвідношення ефектор: цільова клітина 25:1 та планшети поміщали в інкубатор в атмосферу 5 % CO_2 при 37°C на 4 години;

IX) збирали безклітинний супернатант із кожної лунки і кількісно визначали експериментально вивільнену радіоактивність (ER), використовуючи лічильник гамма-випромінювання;

X) відсоток специфічного лізису розраховували для кожної антитіла згідно із формулою $(ER - MR) / (MR - SR) \times 100$, де ER представляє собою середню кількісно визначену радіоактивність (див. абзац ix вище) для цієї концентрації антитіла, MR представляє собою середню кількісно визначену радіоактивність (див. абзац ix вище) для MR контролів (див. абзац v вище), та SR представляє собою середню кількісно визначену радіоактивність (див. абзац ix вище) для SR контролів (див. абзац vi вище);

4) "підвищене ADCC" визначається як або підвищення максимального відсоткового значення специфічного лізису, який спостерігається в діапазоні концентрацій антитіла, тестованих вище, та/або зменшення концентрації антитіла, необхідної для досягнення половини максимального відсоткового значення специфічного лізису, який спостерігається в діапазоні концентрацій антитіла, тестованих вище. Підвищення ADCC визначають відносно ADCC, виміряного за допомогою вищевказаного аналізу, опосередкованого тим самим антитілом, продуктованим тим самим типом клітин-хазяїнів, з використанням ідентичного стандартного одержання, очистки, приготування препаратів та способів зберігання, які добре відомі кваліфікованим фахівцям в даній галузі техніки, але яке не продукувалось клітинами-хазяїнами, сконструйованими для понадекспресії GnTIII.

Кваліфікований фахівець в даній галузі техніки легко зможе адаптувати цей конкретний приклад ADCC аналізу таким чином, що він буде здатним тестувати, чи ADCC активність підвищується при застосуванні антитіл, які використовують відповідно до даного винаходу в порівнянні із застосуванням ритуксимабу, залежно від обставин.

Засоби та способи, які можна застосовувати для визначення ADCP, зокрема, чи має місце

підвищення ADCP в порівнянні із ритуксимабом, відомі в даній галузі техніки і описані, наприклад, в Herter (loc. cit.) та Mössner (loc. cit.).

Відповідно до даного винаходу, ADCP є "підвищеним", якщо він, наприклад, принаймні в 1,2-рази вищий, принаймні в 1,5-рази вищий, принаймні в 2-рази вищий, принаймні в 3-рази вищий, принаймні в 4-рази вищий, принаймні в 5-разів вищий, або принаймні в 10-разів вищий в порівнянні із ADCP, який виникає внаслідок порівняного застосування ритуксимабу.

Засоби та способи, які можна застосовувати для визначення афінності до Fc γ RIII рецептори, зокрема, чи має місце підвищення афінності до Fc γ RIII рецепторів в порівнянні із ритуксимабом, відомі в даній галузі техніки і описані, наприклад, в Tobinai (loc. cit.).

Відповідно до даного винаходу, афінність до Fc γ RIII рецепторів є "підвищеною", якщо вона є, наприклад, принаймні в 1,2-рази вища, принаймні в 1,5-рази вища, принаймні в 2-рази вища, принаймні в 3-рази вища, принаймні в 4-рази вища, принаймні в 5-разів вища, або принаймні в 10-разів вища в порівнянні із афінністю до Fc γ RIII рецепторів, яка виникає внаслідок порівняного застосування ритуксимабу.

Засоби та способи, які можна застосовувати для визначення здатності до запуску інтерналізації поверхневого CD20 (при зв'язуванні із антитілом до CD20), переважно, чи є здатність запускати меншу інтерналізацію поверхневого CD20 (при зв'язуванні із обінутузумабом) в порівнянні із ритуксимабом, відомі в даній галузі техніки і описані, наприклад, в Lim (Blood 118(9), 2011, 2530-40).

Відповідно до даного винаходу, інтерналізація поверхневого CD20 є "меншою", якщо вона, наприклад, принаймні в 1,2-рази нижча, принаймні в 1,5-рази нижча, принаймні в 2-рази нижча, принаймні в 3-рази нижча, принаймні в 4-рази нижча, принаймні в 5-разів нижча, або принаймні в 10-разів нижча в порівнянні із здатністю запускати поверхневу CD20 інтерналізацію, яка виникає внаслідок порівняного застосування ритуксимабу.

Як вказано, в контексті даного винаходу переважно, що обінутузумаб/ функціональний еквівалент обінутузумабу, який застосовують в контексті даного винаходу, включає Fc ділянку з модифікованою схемою глікозилювання. В даному контексті, також можна навести посилання на EP-B1 2380910 та WO 2005/044859; повний зміст яких таким чином включено в дану заявку як посилання.

В контексті даного винаходу особливо переважно, що Fc-ділянка застосовуваного антитіла є з модифікованою схемою глікозилювання таким чином, що антитіло має один або декілька характерних особливостей та MOA, відповідно, як вказано вище, більш переважно в параграфах (V), (VI) та (VII), вище. Характерна особливість /MOA параграфу (V) є найбільш переважною в цьому аспекті (підвищення ADCC).

Обінутузумаб/ функціональний еквівалент обінутузумабу, які застосовуються в контексті даного винаходу, можуть мати підвищену фракцію нефукозильованих олігосахаридів, з'єднаних із вказаною Fc ділянкою з модифікованою схемою глікозилювання.

Обінутузумаб/ функціональний еквівалент обінутузумабу, які застосовуються в контексті даного винаходу, можуть мати підвищену фракцію роздвоєних, нефукозильованих олігосахаридів, з'єднаних із вказаною Fc ділянкою з модифікованою схемою глікозилювання.

Обінутузумаб/ функціональний еквівалент обінутузумабу, які застосовуються в контексті даного винаходу, можуть мати суттєво вищі рівні зв'язування з Fc γ RIII рецепторами людини відносно антитіла без модифікованої схеми глікозилювання, та/або відносно ритуксимабу.

Як вказано, в контексті даного винаходу переважно, що обінутузумаб/ функціональний еквівалент обінутузумабу, який застосовується в контексті даного винаходу, переважно, як визначено в (б) та (в), вище, проявляє суттєво вищі рівні ADCC активності, переважно, відносно антитіла без модифікованої схеми глікозилювання, та/або відносно ритуксимабу. Не бажаючи обмежуватися теорією, суттєво вищі рівні ADCC активності обумовлені Fc ділянкою з модифікованою схемою глікозилювання (див. вище).

Кваліфікований фахівець в даній галузі легко може сконструювати Fc-ділянку антитіла з модифікованою схемою глікозилювання, так, щоб отримати антитіло, яке застосовують відповідно до даного винаходу, наприклад, як вказано вище та в такий спосіб, щоб відновити релевантну (i) характерну (i) особливість (i)/ MOA. Крім того, кваліфікований фахівець в даній галузі техніки легко зможе зробити висновок, що представляє собою збільшення фракції нефукозильованих олігосахаридів та збільшення фракції роздвоєних нефукозильованих олігосахаридів відповідно до даного винаходу. В даному контексті, кваліфікований фахівець в даній галузі техніки може, зокрема, покладатися на відомості, розкриті в EP-B1 2380910 та WO 2005/044859; зміст яких таким чином включено в дану заявку як посилання. Необмежувальні приклади таких підвищень представляють собою підвищення принаймні в 1,2-рази, принаймні в 1,5-рази, принаймні в 2-рази, принаймні в 3-рази, принаймні в 4-рази, принаймні в 5-разів або

принаймні в 10-разів (відносно антитіла без модифікованої схеми глікозилювання).

Відповідно до даного винаходу, терміни "ідентичність" або "ідентична" або "відсоток ідентичності" або "відсоткова доля ідентичності" або "ідентичність послідовностей" в контексті двох (або більше) послідовностей нуклеїнової кислоти стосується двох (або більше) послідовностей або підпослідовностей, які є однаковими, або які мають вказаний відсоток нуклеотидів, які є однаковими (переважно принаймні 80 % ідентичність, більш переважно принаймні 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 % або 98 % ідентичність, найбільш переважно принаймні 99 % ідентичність), при порівнянні та вирівнюванні для максимальної відповідності через вікно порівняння, або через позначену ділянку, як визначається із застосуванням алгоритму порівняння послідовностей, як відомо в даній галузі техніки, або за допомогою ручного вирівнювання та візуальної інспекції. Послідовності, які мають, наприклад, 80 % - 90 % або більшу ідентичність послідовностей, можуть розглядатися як суттєво ідентичні. Таке визначення також застосовується до комплементу тестованої послідовності. Описана ідентичність може існувати в ділянці, яка має довжину принаймні приблизно 15-25 нуклеотидів, в ділянці, яка має довжину принаймні приблизно 50-100 нуклеотидів або в ділянці, яка має довжину принаймні приблизно 800-1200 нуклеотидів (або для повної довжини послідовності). Кваліфіковані фахівці в даній галузі техніки знають, як визначити відсоток ідентичності між/для послідовностей, із застосуванням, наприклад, алгоритмів, таких як ті, які ґрунтуються на комп'ютерній програмі CLUSTALW (Thompson Nucl. Acids Res. 2 (1994), 4673-4680) або FASTDB (Brutlag Comp. App. Biosci. 6 (1990), 237-245), як відомо в даній галузі.

Незважаючи на те, що алгоритм FASTDB типово не враховує внутрішні неспівпадаючі делеції або додавання в послідовностях, а саме, гепи, при його розрахунках, це можна корегувати вручну для уникнення переоцінки % ідентичності. Проте CLUSTALW не враховує гепи послідовностей при розрахунку їх ідентичності. Також для кваліфікованих фахівців в даній галузі доступні алгоритми BLAST та BLAST 2.0 (Altschul, (1997) Nucl. Acids Res. 25:3389-3402; Altschul (1993) J. Mol. Evol. 36:290-300; Altschul (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410). Програма BLASTN для послідовностей нуклеїнової кислоти використовує за замовчуванням довжину слова (W) 11, очікування (E) 10, M=5, N=4, та порівняння обох ланцюгів. Матриця оцінювання BLOSUM62 (Henikoff (1989) PNAS 89:10915) використовує вирівнювання (B) 50, очікування (E) 10, M=5, N=4, та порівняння обох ланцюгів.

Для визначення, чи буде нуклеотидний залишок в послідовності нуклеїнової кислоти відповідати певному положенню в даній нуклеотидній послідовності, кваліфікований фахівець в даній галузі техніки може використовувати засоби та способи, добре відомі в даній галузі техніки, наприклад, вирівнювання, або вручну або із застосуванням комп'ютерних програм, такі як ті, які вказані в даній заявці. Наприклад, BLAST 2.0, що означає засіб пошуку основного локального вирівнювання (Basic Local Alignment Search Tool BLAST) (Altschul (1997), loc. cit.; Altschul (1993), loc. cit.; Altschul (1990), loc. cit.), можна застосовувати для пошуку локального вирівнювання послідовностей. BLAST, як обговорювалося вище, продукує вирівнювання нуклеотидних послідовностей для визначення подібності послідовностей. В зв'язку із локальною природою вирівнювання, BLAST особливо придатний для визначення точних співпадінь або для ідентифікації подібних послідовностей. Основна одиниця результату роботи алгоритму BLAST представляє собою пару сегментів із високим показником подібності (High-scoring Segment Pair (HSP)). HSP складається із двох фрагментів послідовностей довільно вибраних, але рівних довжин, вирівнювання яких локально є максимальним та для яких оцінка вирівнювання відповідає або перевищує порогове або граничне значення, встановлене користувачем. BLAST підхід полягає в пошуку HSP між запитуваною послідовністю та послідовністю бази даних, для оцінки статистичної значимості будь-яких знайдених співпадінь, та для опису тільки тих співпадінь, які відповідають вибраному користувачем порогу значимості. Параметр E описує статистично значимий поріг для описаних співпадінь послідовності бази даних. E інтерпретується як верхня межа очікуваної частоти зміни події HSP (або набору HSP) в контексті пошуку по всій базі даних. Будь-яка послідовність бази даних, чие співпадіння задовольняє E, описується в результатах програми.

Аналогічні комп'ютерні методики із використанням BLAST (Altschul (1997), loc. cit.; Altschul (1993), loc. cit.; Altschul (1990), loc. cit.) застосовують для пошуку ідентичних або споріднених молекул в базах даних нуклеотидів, таких як GenBank або EMBL. Цей аналіз є набагато швидшим, ніж множинна гібридизація на мембранах. Додатково, чутливість комп'ютерного пошуку може бути модифікована для визначення того, чи будь-яке конкретне співпадіння класифіковане як точне або подібне. Основа такого пошуку представляє собою оцінку продукту, який ідентифікується як:

% ідентичності послідовностей x % максимальної BLAST оцінки

100

та він враховує обидва параметри, як ступінь подібності між двома послідовностями та довжину співпадіння послідовностей. Наприклад, із оцінкою продукту 40, співпадіння буде точним в межах 1-2 % похибки; та при 70, співпадіння буде точним. Подібні молекули зазвичай ідентифікують шляхом відбору тих, які проявляють оцінки продукту в інтервалі 15 та 40, хоча знижені оцінки можуть ідентифікувати споріднені молекули. Іншим прикладом програми, здатної генерувати вирівнювання послідовностей, є комп'ютерна програма CLUSTALW (Thompson (1994) Nucl. Acids Res. 2:4673-4680) а б о FASTDB (Brutlag (1990) Comp. App. Biosci. 6:237-245), як відомо в даній галузі техніки.

В цілому, терміни "антитіло", "антитіла" або "їх функціональні еквіваленти", як використовується в даній заявці, є відомими в даній галузі термінами та стосуються молекул або активних фрагментів молекул, які зв'язуються з відомими антигенами, переважно з молекулами імуноглобулінів та з імунологічно активними частинами молекул імуноглобулінів, тобто молекул, які містять зв'язувальний сайт, який імуноспецифічно зв'язує антиген. Імуноглобулін може бути, в принципі, будь-якого типу (IgG, IgM, IgD, IgE, IgA та IgY) або класу (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 та IgA2) або підкласів молекули імуноглобуліну.

"Антитіла" в контексті даного винаходу охоплюють моноклональні антитіла, поліклональні, химерні, одноланцюгові, біспецифічні, мавпячі, людські та гуманізовані антитіла, а також їх активні фрагменти. Приклади активних фрагментів молекул, які зв'язуються з відомими антигенами, включають Fab та F(ab')₂ фрагменти, включаючи продукти бібліотеки експресії Fab імуноглобуліну та фрагменти, які зв'язують епітоп, будь-яких з антитіл та фрагментів, вказаних вище.

Ці активні фрагменти можуть мати походження із конкретного антитіла (наприклад, обінутузамабу) за допомогою різноманітних технік. Наприклад, очищені моноклональні антитіла можуть бути розщеплені за допомогою ферменту, такого як пепсин, та піддані ВЕРХ гел-фільтрації. Після цього підходяща фракція, яка містить Fab фрагменти, може бути зібрана та концентрована за допомогою мембранної фільтрації та ін. Для подальшого опису загальник технік виділення активних фрагментів антитіл, див, наприклад, Khaw, B. A. та ін., J. Nucl. Med. 23:1011-1019 (1982); Rousseaux та ін., Methods Enzymology, 121:663-69, Academic Press, 1986.

"Гуманізоване антитіло" стосується типу сконструйованого антитіла, що має свої CDR, які мають походження із нелюдського донорного імуноглобуліну, частини молекули, які залишилися, що мають походження з імуноглобуліну, мають походження із одного (або декількох) імуноглобуліну (ів) людини.

Гуманізоване антитіло додатково може стосуватися антитіла, яке має варіабельну ділянку, де одна або декілька його каркасних ділянок мають людські амінокислоти (або примат). Додатково, залишки, що підтримують каркасну ділянку, можуть бути змінені для збереження афінності зв'язування. Способи одержання "гуманізованих антитіл" добре відомі кваліфікованим фахівцям в даній галузі техніки. (див., наприклад, Queen та ін., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:10029-10032 (1989), Hodgson та ін., Bio/Technology, 9:421 (1991)).

"Гуманізоване антитіло" також може бути отримане за допомогою нового генно-інженерного підходу, який надає можливість одержання подібних до людських поліклональних антитіл із зрілою афінністю у великих тварин, таких як, наприклад, кролики (<http://www.rcitech.com/bioventures/therapeutic.php>).

Термін "моноклональне антитіло" також добре відомий в даній галузі техніки та стосується антитіла, яке серійно виробляється в лабораторії з одного єдиного клону та яке розпізнає лише один антиген. Моноклональні антитіла типово одержують шляхом злиття нормально короткоіснуючої, антитіло-продукуючої В –клітини із клітиною, яка швидко росте, також як злоякісна клітини (деколи позначається як "імморталізована" клітина). Отримана гібридна клітина, або гібридома, ділиться швидко, створюючи клон, який продукує великі кількості антитіла.

Термін "антиген" стосується всієї структури або його фрагменту, що може індукувати імунну відповідь в організмі, переважно у тварини, більш переважно у ссавця, включаючи людину. Термін включає імуногени та ділянки, які відповідають за антигенність або антигенні детермінанти.

Як використовується в даній заявці, термін "розчинний" означає часткову або повну розчинність у водному розчині.

Також, як використовується в даній заявці, термін "імуногенний" стосується речовин, які викликають або посилюють вироблення антитіл, Т-клітин та інших реактивних імунних клітин, націлених на імуногенний агент та які сприяють імунній відповіді у людей або тварин.

Термін "гібридома" в даній галузі відомий та зрозумілий для кваліфікованого фахівця в даній галузі техніки для позначення клітини, яка утворена шляхом злиття антитіло-продукуючої клітини та іморталізованої клітини, наприклад, клітини множинної мієломи. Ця гібридна клітина здатна безперервно продукувати антитіла. Див. визначення "моноклональне антитіло" вище для більш докладного опису способу злиття.

В одному варіанті здійснення, функціональний еквівалент обінутузумабу розглядається як такий, що включає константну ділянку важкого ланцюга обінутузумабу як таку (наприклад, положення амінокислот 120-449 SEQ ID NO. 5), або константну ділянку легкого ланцюга обінутузумабу як таку (наприклад, положення амінокислот 116-219 SEQ ID NO. 6), або обидві, константну ділянку важкого ланцюга та константну ділянку легкого ланцюга обінутузумабу як такі. Амінокислотна послідовність константної ділянки важкого ланцюга та константної ділянки легкого ланцюга, що містяться в функціональному еквіваленті обінутузумабу, може бути на 100 % ідентична до амінокислотної послідовності константної ділянки важкого ланцюга та константної ділянки легкого ланцюга обінутузумабу як такої. Проте вона також може відрізнятися до деякого ступеню від цієї /цих амінокислотної (их) послідовності (ей). Наприклад, вона може бути принаймні на 70 %, принаймні на 75 %, принаймні на 80 %, принаймні на 85 %, принаймні на 90 %, принаймні на 95 %, принаймні на 98 %, принаймні на 99 % ідентична до відповідної амінокислотної послідовності обінутузумабу як такої. Незважаючи на це, передбачається, що такий варіант константної ділянки важкого ланцюга та константної ділянки легкого ланцюга все ще відповідає релевантним характеристикам обінутузумабу та функціонального еквіваленту обінутузумабу, відповідно (див. вище щодо детальних відомостей), зокрема, характерній ознаці наявності модифікованої схеми глікозилювання, як описано в даній заявці, та сприяє суттєво більш високому рівню активності ADCC, як описано в даній заявці, відповідно.

Найбільш переважно, антитіло, яке застосовують відповідно до даного винаходу, представляє собою сам обінутузумаб (також відомий як Gazyva™/Gazyvaro™ та GA101; WHO Drug Information 27(1), 2013, 90, Рекомендований INN: Перелік 69). Як було вказано, Обінутузумаб добре відомий в даній галузі техніки та описаний, наприклад, в EP-B1 2380910 та WO 2005/044859. Обінутузумаб має наступну структуру:

Важкий ланцюг

```
QVQLVQSGAE VKKFGSSVKV SCKASGYAFS YSWINWVRQA PGQGLEWMGR 50
IFPGDGD TDY NCKFKGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARNV 100
FDGYWLVIWG QGTLVTVSSA STKGPSVFPPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD 150
YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPVAVLQSSG LYSLSVSVTV PSSLIGTQTY 200
ICNVNKKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPELLGCP SVFLFPPKPK 250
DTLMISRTPE VTCVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS 300
TYRVVSVLTV LKQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV 350
YTLFPSSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL 400
DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK 449
```

Легкий ланцюг

```
DIYMTQTPLS LPVTPGEPAS ISCRSSKSLI HSNGITIYLYW YLQKPGQSPQ 50'
LLIYQMSNLV SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCAQNLELP 100'
YTFGGGTKEV IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK 150'
VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE 200'
VTHQGLSSPV TKSFNREGC 219'
```

Розташування дисульфідних містків

```
22-96 22'-96" 23'-93" 23'''-93''' 139'-199' 139'''-199''' 146-202 146"-202"
219'-222 219'''-222''' 228-228" 231-231" 263-323 263"-323" 369-427 369"-427"
```

Сайти глікозилювання

N CH2 N84.4

299, 299" (збагачення в роздвоєних нефукозилюваних олігосахаридах)

Антитіло ритуксимаб (медична назва продукту: MabThera®; також відоме як Ритуксан®) також добре відоме в даній галузі техніки. Воно описано, наприклад, в EP-B1 1005870 (наприклад, Фігури 4 та 5). Амінокислотна послідовність важкого ланцюга ритуксимабу представлена в SEQ ID NO. 9. Амінокислотна послідовність легкого ланцюга ритуксимабу представлена в SEQ ID NO. 10.

Відповідно до даного винаходу, кваліфікований фахівець в даній галузі техніки легко зможе оцінити, чи буде пацієнт сприятливо відповідати на лікування із застосуванням обінутузумабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією), в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією). Особливо, в цьому аспекті можуть бути оцінені клінічний результат або клінічні кінцеві точки лікування. Клінічні результати/клінічні кінцеві точки, які можуть бути оцінені в цьому аспекті, доступні для кваліфікованого фахівця в даній галузі техніки і є такими, як описано, наприклад, в Goede (loc. cit.), Owen (Expert Opin. Biol. Ther. 12(3), 2012, 343-51) та Illidge (Expert Opin. Biol. Ther. 12(5), 2012, 543-5) та в подальших прикладах.

Переважні приклади клінічного результату, які оцінюють відповідно до даного винаходу, представляють собою виживання без прогресування захворювання (PFS), загальне виживання (OS) та/або безподійне виживання (EFS). Переваги обінутузумабу в порівнянні із ритуксимабом відповідно до даного винаходу також можуть бути визначені на основі однієї або декількох клінічних кінцевих точок. В принципі, відповідно до даного винаходу, термін клінічний результат стосується часу під час лікування та термін клінічна кінцева точка стосується часу на момент (або після) закінчення лікування. Відповідно до даного винаходу, клінічна кінцева точка може представляти собою первинну клінічну кінцеву точку. Переважні, але не обмежувальні, клінічні результати та клінічні кінцеві точки описані в подальших прикладах.

Кваліфікований фахівець в даній галузі техніки легко може визначити, чи даний клінічний результат поліпшується відповідно до даного винаходу, а саме поліпшується в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу. Наприклад, "поліпшується" в даному контексті означає, що клінічний результат (який розвивається в результаті лікування із застосуванням обінутузумабу/ функціонального еквіваленту обінутузумабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією)) є принаймні на 3 % вищий, принаймні на 5 % вищий, принаймні на 7 % вищий, принаймні на 10 % вищий, принаймні на 15 % вищий, принаймні на 20 % вищий, принаймні на 25 % вищий, принаймні на 30 % вищий, принаймні на 40 % вищий, принаймні на 50 % вищий, принаймні на 75 % вищий, принаймні на 100 % вищий, або принаймні на 120 % вищий, в порівнянні із клінічним результатом, який розвивається при порівнюванні лікуванням із застосуванням ритуксимабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією).

Час, коли оцінюють клінічний результат/клінічну кінцеву точку, легко може бути визначений кваліфікованим фахівцем в даній галузі техніки. В принципі, він може бути визначений в момент часу, коли відмінність для клінічного результату/клінічної кінцевої точки між двома лікуваннями (лікування із застосуванням обінутузумабу відносно лікування із застосуванням ритуксимабу) стає (достовірно) очевидним. Цей час може становити, наприклад, принаймні 1 місяць, принаймні 2 місяці, принаймні 3 місяці, принаймні 6 місяців, принаймні 12 місяців, принаймні 18 місяців, принаймні 24 місяців, принаймні 30 місяців, принаймні 36 місяців, принаймні 42 місяців, або принаймні 48 місяців, після початку лікування.

Переважно, (DLBCL) пацієнт, який піддається лікуванню відповідно до даного винаходу, представляє собою пацієнта-людину /людину.

Найбільш переважно, (DLBCL) пацієнт, який піддається лікуванню відповідно до даного винаходу, представляє собою 1L DLBCL пацієнта-людину. Це означає, що DLBCL пацієнт представляє собою раніше нелікованого DLBCL пацієнта.

Проте, в принципі, також інші пацієнти можуть піддаватися лікуванню відповідно до даного винаходу, наприклад, пацієнт, який відрізняється від людини, наприклад, домашній улюбленець (наприклад, собака, кіт, кролик, щур або миша), велика рогата худоба (наприклад, корова, свиня, вівця), кінь або поні або птах (наприклад, курка, індик, папуга). Інші теплокровні тварини також можуть піддаватися лікуванню відповідно до даного винаходу.

Як було вказано, особливо переважно в контексті даного винаходу передбачається, що пацієнт, визначений в даній заявці, відповідає на лікування із застосуванням обінутузумабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією) шляхом досягнення поліпшеного клінічного результату в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу (особливо, в комбінації з хіміотерапією, більш переважно в комбінації з CHOP хіміотерапією).

Антитіло, яке застосовують в контексті даного винаходу (а саме обінутузумаб або його функціональний еквівалент) можна вводити в комбінації із додатковими засобами. Наприклад, можна спільно вводити один або декілька додаткових інших цитотоксичних або хіміотерапевтичних агентів, або променева терапія, які посилюють ефекти такого (их) агента (ів); див., наприклад, EP-B1 2380910, WO 2005/044859, WO 2015/067586 та WO 2016/207312 щодо відповідних прикладів.

Терміни "вводиться в комбінації із" або "спільно вводиться", "спільне введення", "комбінована терапія" або "комбіноване лікування" стосується введення антитіла, як описано в даній заявці, та іншого (их) агента (ів), як описано в даній заявці, наприклад, у вигляді окремих препаратів /застосувань (або у вигляді одного єдиного препарату /застосування). Спільне введення може бути одночасним або послідовним у будь-якому порядку, де переважно існує період, коли обидва (або всі) активні агенти одночасно проявляють їх біологічні активності. Вказане антитіло та вказаний (і) додатковий (і) агент (и) спільно вводяться або одночасно або послідовно (наприклад, внутрішньовенно (в/в)), наприклад, шляхом безперервної інфузії. Коли обидва терапевтичні агенти спільно вводяться послідовно, то доза, яка вводиться або в один і той самий день за два окремі введення, або один з агентів може вводитися в день 1, а другий може спільно вводитися в день 2 до дня 7, переважно в день 2-4. Таким чином, в одному варіанті здійснення термін "послідовно" означає в межах (приблизно) 7 днів після дози першого компоненту, переважно в межах (приблизно) 4 днів після дози першого компоненту; та термін "одночасно" означає в один і той самий час. Термін "спільне введення" по відношенню до підтримуючих доз антитіла та/або додаткового (их) агента (ів) означає, що підтримуючі дози можуть або спільно вводитися одночасно, якщо цикл лікування є підходящим для обох лікарських засобів, наприклад, щотижнево або додатковий агент наприклад, вводять, наприклад, кожен перший-третій день, а вказане антитіло вводять щотижнево. Або підтримуючі дози спільно вводять послідовно, або в межах одного або в межах декількох днів.

Додатково до антитіла, необов'язково в комбінації з іншим (и) агентом (ами), також можна вводити (а) хіміотерапевтичний (і) агент (и) або таргетні терапії.

Такі додаткові хіміотерапевтичні агенти, які можна спільно вводити, включають, але не обмежуючись лише ними, протипухлинні агенти, включаючи алкілувальні агенти, включаючи: азотисті іприти, такі як мехлоретамін, циклофосфамід, іфосфамід, мельфалан та хлорамбуцил; нітрозосечовини, такі як кармустин (BCNU), ломустин (CCNU) та семустин (метил-CCNU); Темодал (ТМ) (темозоламід), етиленіміни/метилмеламін, такі як триетиленмеламін (ТЕМ), триетилен, тіофосфорамід (тіотепа), гексаметилмеламін (НММ, алтретамін); алкілсульфонати, такі як бусульфан; тріазини, такі як дакарбазин (DTIC); антиметаболіти, включаючи аналоги фолієвої кислоти, такі як метотрексат та триметотрексат, аналоги піримідину, такі як 5-фторурацил (5FU), фтордезоксіуридин, гемцитабін, цитозину арабінозид (АгаС, цитарабін), 5-азацитидин, 2,2'-дифтордезоксцитидин, аналоги пурину, такі як 6-меркаптопурин, 6-тіогуанін, азатиоприн, Т-дезоксикоформіцин (пентостатин), еритрогідроксиналоніадин (EHNA), флударабін фосфат, та 2- хлордезоксиаденозин (кладрибін, 2-CdA); природні продукти, включаючи антиміотичні засоби, такі як паклітаксел, алкалоїди барвінку, включаючи вінбластин (VLB), вінкрисдин та вінорелбін, таксотер, естрамустин та естрамустин фосфат; піподофілотоксини, такі як етопозид та теніпозид; антибіотики, такі як актиномицин D, дауноміцин (рубідоміцин), доксорубіцин, мітоксантрон, ідарубіцин, блеоміцини, плікаміцин (мітраміцин), мітоміцин С та актиномицин; ферменти, такі як L-аспарагіназа; модифікатори біологічної відповіді, такі як альфа-інтерферон, IL-2, G-CSF та GM-CSF; різноманітні засоби, включаючи координаційні комплекси платини, такі як оксалиплатин, цисплатин та карбоплатин, антрацендіони, такі як мітоксантрон, заміщена сечовина, така як гідроксисечовина, похідні метилгідазину, включаючи N-метилгідазин (MHN) та прокарбазин, засоби, які пригнічують кору наднирників, такі як мітотан (о, р-DDD) та аміноглутетимід; гормони та антагоністи, включаючи антагоністи адренокортикостероїдів, такі як преднізон та еквіваленти, дексаметазон та аміноглутетимід; Гемзар (ТМ) (гемцитабін), прогестин, такі як гідроксипрогестерону капроат, медроксипрогестерону ацетат та мегестрол ацетат; естроген, такі як еквіваленти діетилстильбестрол та етинілестрадіол; антиестроген, такі як тамоксифен; андрогени, включаючи пропіонат тестостерону та флуоксиместерон/еквіваленти; антиандрогени, такі як флутамід, аналоги гонадотропін-рилізінг-гормону та лейпрорелін; та нестероїдні антиандрогени, такі як флутамід. Терапії, націлені на епігенетичний механізм, включаючи, але не обмежуючись лише ними, терапії із застосуванням інгібіторів гістондеацетилази, деметилувальних агентів (наприклад, Відаза) та вивільнення транскрипційної репресії (АТРА), також можна комбінувати із антигензв'язувальними білками. В одному варіанті здійснення хіміотерапевтичний агент вибирають із групи, яка включає таксани (такі як, наприклад,

паклітаксел (Таксол), доцетаксел (Таксотер), модифікований паклітаксел (наприклад, Абраксан та Опаксіо), доксорубіцин, сунітиніб (Сутент), сорафеніб (Нексавар), та інші мультикіназні інгібітори, оксаліплатин, цисплатин та карбоплатин, етопозид, гемцитабін та вінбластин. В одному варіанті здійснення хіміотерапевтичний агент вибирають із групи, яка включає таксани (такі як, наприклад, таксол (паклітаксел), доцетаксел (Таксотер), модифікований паклітаксел (наприклад, Абраксан та Опаксіо). В одному варіанті здійснення, додатковий хіміотерапевтичний агент вибирають із 5-фторурацилу (5-FU), лейковорину, іринотекану або оксаліплатину. В одному варіанті здійснення хіміотерапевтичний агент представляє собою 5-фторурацил, лейковорин та іринотекан (FOLFIRI). В одному варіанті здійснення хіміотерапевтичний агент представляє собою 5-фторурацил, та оксаліплатин (FOLFOX).

В переважному варіанті здійснення, антитіло, визначене в даній заявці, (а саме обінутузумаб та його функціональні еквіваленти) можна вводити в комбінації із хіміотерапією, наприклад, із CHOP хіміотерапією (більш переважно) або з варіантами CHOP хіміотерапії, такими як CHOEP хіміотерапія, CHOP-14 хіміотерапія або ACVBP хіміотерапія (див., наприклад, приклади, які викладені далі в даній заявці, і також EP-B1 2380910, WO 2005/044859 та Scott, 2014 та 2015, loc. cit.). Таким чином, в переважному варіанті здійснення, додаткові хіміотерапевтичні агенти, які спільно вводять, вибирають із групи, яка включає Циклофосфамід, Гідроксидаунорубіцин, Онковейн, Преднізон або Преднізолон та, необов'язково, Етопозид.

Антитіло, яке застосовують в контексті даного винаходу, можна включати в композицію, зокрема, в фармацевтичну композицію. Фармацевтична композиція може включати фармацевтично прийнятний носій.

Підходящі фармацевтичні композиції та фармацевтично прийнятні носії відомі в даній галузі техніки і є такими, як описано, наприклад, в EP-B1 2380910, WO 2005/044859, WO 2015/067586 та WO 2016/207312.

Таким чином, в іншому аспекті, композиція, наприклад, фармацевтична композиція, яка містить антитіло або його антигензв'язувальну частину, як описано в даній заявці, необов'язково готують у вигляді препарату разом із фармацевтично прийнятним носієм, також охоплюються відповідно до даного винаходу

Як використовується в даній заявці, "фармацевтично прийнятний носій" включають будь-які та всі підходящі розчинники, дисперсійні середовища, покриття, антибактеріальні та протигрибкові агенти, ізотонічні агенти та агенти, які сповільнюють абсорбцію/резорбцію, та інші, які є фізіологічно сумісними. Переважно, фармацевтична композиція та носій, відповідно, є підходящими для ін'єкції або інфузії.

Фармацевтично прийнятні носії включають стерильні водні розчини або дисперсії та стерильні порошки для приготування стерильних розчинів для ін'єкції або дисперсії. Застосування таких середовищ та агентів для фармацевтично активних речовин відомо в даній галузі техніки. Додатково до води, носії може представляти собою, наприклад, забуферений ізотонічний сольовий розчин.

Підходящі носії, наповнювачі або стабілізатори, які нетоксичні для пацієнта у використовуваних дозах і концентраціях, включають буфери, такі, як фосфатний, цитратний і буфери на основі інших органічних кислот; антиоксиданти, у тому числі аскорбінову кислоту й метіонін; консерванти, такі, як октадецилдиметилбензил хлорид амонію, хлорид гексаметонію, хлорид бензалконію, хлорид бензетонію, фенол, бутил або бензиловий спирт, алкіл-парабени, наприклад, метил- або пропіл-парабен, катехол, резорцінол, циклогексанол, 3-пентанол й м-крезол; пептиди низької молекулярної маси (менше 10 амінокислотних залишків); білки, такі, як сироватковий альбумін, желатин або імуноглобуліни; гідрофільні полімери, такі, як полівінілпіролідон; амінокислоти, такі, як гліцин, глутамін, аспарагін, гістидин, аргінін або лізин; моносахариди, дисахариди й інші вуглеводи, у тому числі глюкоза, маноза або декстрини; хелатуючі агенти, такі, як EDTA; цукри, такі, як сахароза, манітол, трегалоза або сорбітол; протиіони, які утворюють солі; комплекси металів (наприклад, Zn-білкові комплекси) і/або неіонні сурфактанти, такі, як TWEEN™, PLURONICS™ або поліетиленгліколь (PEG).

Композиція/антитіло за даним винаходом можна вводити різноманітними способами, відомими в даній галузі техніки. Як зрозуміло для кваліфікованого фахівця в даній галузі техніки, шлях та/або спосіб введення буде змінюватися, залежно від бажаних результатів.

Незалежно від вибраного шляху введення, сполуки за даним винаходом, які можна застосовувати в підходящій гідратованій формі, та/або фармацевтичні композиції за даним винаходом, приготують у вигляді фармацевтично прийнятних дозованих форм за допомогою загальноприйнятих методів, добре відомих кваліфікованих фахівцям в даній галузі техніки.

Типові препарати антитіл, які, підходяще адаптовані, також можуть застосовуватися

відповідно до даного винаходу описані в WO98/56418. В цій публікації описано рідкий мультидозовий препарат, який містить 40 мг/мл антитіла, 25 мМ ацетату, 150 мМ трегалози, 0,9 % бензилового спирту, 0,02 % полісорбату 20 при pH 5,0, який має мінімальний період зберігання два роки при 2-8 °C. Інший препарат антитіла включає 10 мг/мл антитіла в 9,0 мг/мл хлориду натрію, 7,35 мг/мл дигідрату цитрату натрію, 0,7 мг/мл полісорбату 80, та стерильну воду для ін'єкцій, pH 6,5.

Актуальні рівні дозування активних компонентів в фармацевтичних композиціях за даним винаходом можуть змінюватися таким чином, щоб отримати кількість активного компонента, яка є ефективною для досягнення бажаної терапевтичної відповіді для конкретного пацієнта, композиції та способу введення, без прояву токсичності для пацієнта (ефективна кількість). Вибраний рівень дозування буде залежати від різноманітних фармакокінетичних факторів, включаючи активність конкретних застосовуваних композицій за даним винаходом, або їх складного ефіру, солі або аміду, шляху введення, часу введення, швидкості виведення конкретної застосовуваної сполуки, інших лікарських засобів, сполук та/або матеріалів, які застосовують в комбінації із конкретними використовуваними композиціями, вік, стать, вагу, стан, загальний стан здоров'я та попередній медичний анамнез пацієнта, який піддається лікуванню, та подібні (інші) фактори, які добре відомі в галузі медицини.

Термін "спосіб лікування" або його еквіваленти, коли застосовується, наприклад, до DLBCL, та пацієнта, як визначено в даній заявці, відповідно, стосується процедури або плану дій, яка (ий), наприклад, створена (ий) для зменшення або елімінації кількості DLBCL пухлинних клітин у пацієнта, або для ослаблення симптомів DLBCL пухлини. Проте, "спосіб лікування" DLBCL, може необов'язково означати, що пухлинні клітини DLBCL будуть, фактично, еліміновані, що кількість клітин буде, фактично, зменшена, або що симптоми DLBCL пухлини будуть, фактично, ослаблені. Часто, спосіб лікування DLBCL будуть здійснювати навіть із низькою ймовірністю успіху, але, незважаючи на це, і враховуючи медичний анамнез та розраховану тривалість виживання пацієнта, вважають, що він індукує загальний сприятливий план дій, зокрема, в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу.

Очевидно, що антитіло, яке вводять (будуть вводити) пацієнту в "терапевтично ефективній кількості" (або просто "ефективній кількості"), яка представляє собою кількість відповідної сполуки або комбінації, яка викликає біологічну або медичну відповідь, наприклад, тканини, системи, тварини або людини, яку передбачає отримати дослідник, ветеринар, клінічний лікар або інших медпрацівник.

Кількість (спільного) введення та хронометраж (спільного) введення буде залежати від типу (види, стать, вік, вага і т.д.) та стану пацієнта, який підлягає лікуванню, і тяжкості захворювання або стану, який підлягає лікуванню. Антитіло та необов'язково, додатковий агент, підходяще (спільно) вводять пацієнту в один і той самий час або протягом серій лікувань, наприклад, в один і той самий день або на наступний день.

Залежно від типу та тяжкості захворювання, приблизно 0,1 мг/кг - 50 мг/кг (наприклад, 0,1-20 мг/кг) антитіла, визначеного в даній заявці, представляє собою початкову кандидатну дозу для спільного введення пацієнту.

Переважаючий, проте необмежувальний, приклад схеми введення (включаючи шляхи введення та дозування) для обінутузумабу/ функціонального еквіваленту обінутузумабу (більш переважно G-CHOP) описано в та забезпечується доданими прикладами (зокрема, прикладом 1 та прикладом 2, в якому описано план дослідження та лікування, які застосовуються в контексті дослідження GOYA більш докладно). Кваліфікований фахівець в даній галузі техніки, при необхідності, легко зможе адаптувати цей приклад G схеми введення до будь-якої іншої G схеми введення, яка може бути підходящою відповідно до даного винаходу.

Антитіло та фармацевтична композиція, відповідно, що розкривається відповідно до даного винаходу, може забезпечуватися разом із інструкцією із застосування або листком-вкладишем з інструкцією. Інструкція із застосування/листок-вкладиш може містити вказівки для кваліфікованого фахівця в даній галузі /лікуючого лікаря як лікувати DLBCL та пацієнта, визначеного в даній заявці, відповідно до даного винаходу. Наприклад, інструкція із застосування/листок-вкладиш може містити вказівки щодо розкритого в даній заявці способу введення / схеми введення (наприклад, шляху введення, схеми дозування, часу введення, частоти введення). Зокрема, інструкція із застосування/листок-вкладиш може містити інформацію для пацієнта, який піддається лікуванню, а саме пацієнта, визначеного в даній заявці. В принципі, що було вказано в будь-якому місці в даній заявці по відношенню до обінутузумабу, пацієнта, який піддається лікуванню, способу введення /схеми введення (включаючи дозування тощо) і т.д., можуть міститися в інструкції із застосування/листу-вкладишу.

Переважний зразок, який застосовують в контексті даного винаходу, має походження із пухлинної тканини пацієнта (наприклад, у вигляді біопсії). Наприклад, можна застосовувати зафіковану у формаліні або, переважно та, парафіновану пухлинну тканину (наприклад, зрізи пухлинної тканини на предметному склі). Проте також охоплюються інші зразки в контексті даного винаходу, наприклад, зрізи/біопсії інших тканин, зразки крові, зразки сироватки або зразки інших рідин організму, та подібні.

В даному описі, процитовані різноманітні документи, включаючи патенти /патентні заявки. Розкриття цих документів, хоча і не розглядається як релевантне для патентоздатності даного винаходу, таким чином повністю включено шляхом посилання. Більш специфічно, всі процитовані документи включені шляхом посилання в такому самому обсязі, як і кожен окремий документ був би включено специфічно та індивідуально шляхом посилання.

Далі винахід ілюструється із посиланням на наступні фігури та приклади, які не повинні розглядатися як обмеження обсягу за даним винаходом.

На Фігурах показано:

Фігура 1

Розподіл пацієнтів в GOYA.

*Припинено стосується пацієнтів, які припинили лікування в рамках дослідження (антитіло).

†Середній час спостереження становив 29 місяців в кожній групі; завершене лікування стосується пацієнтів, які завершили лікування в рамках дослідження (антитіло).

Пацієнти стратифікували при рандомізації за допомогою оцінки IPI (низький/низький-проміжний, високий-проміжний, та високий-ризик), заплановану кількість CHOP циклів (8 відн. 6), та географічний регіон (Західна Європа, Східна Європа, Південна та Центральна Америка, Північна Америка, Азія, та інші).

G-CHOP, обінутузумаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрисдин та преднізон/преднізолон; R-CHOP, ритуксимаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрисдин та преднізон/преднізолон.

Фігура 2

Розрахунок за методом Каплан-Мейєра PFS та OS в GOYA.

(A) оцінене дослідником PFS (первинна контрольна точка) за допомогою лікування, популяція всіх пацієнтів, первинно відібраних для лікування, (B) OS за допомогою лікування, популяція всіх пацієнтів, первинно відібраних для лікування (C) оцінена дослідником PFS за допомогою підтипу клітин-попередників (незалежно від лікування в рамках дослідження) у пацієнтів із даними клітинами-попередниками.

ABC, подібні до активованої В-клітини; ДІ, довірчий інтервал; GCB, подібні до В-клітини зародкового центру; G-CHOP, обінутузумаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрисдин та преднізон; CP, співвідношення ризиків; OS, загальне виживання; PFS, виживання без ознак прогресування захворювання; R-CHOP, ритуксимаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрисдин та преднізон.

Фігура 3

Нестратифіковані співвідношення ризиків для оціненого дослідником PFS в підгрупах GOYA пацієнтів.

(A) Фактори стратифікації рандомізації та (B) початкові характеристики.

ABC, подібні до активованої В-клітини; ДІ, довірчий інтервал; DLBCL, дифузна великоклітинна В-клітинна лімфома; ECOG PS, Eastern Cooperative Oncology Group performance status (Східна об'єднана онкологічна група (п'ятибальна шкала оцінки загального стану онкохворого); GCB, Подібні до В-клітини зародкового центру; G-CHOP, обінутузумаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрисдин та преднізон; IPI, Міжнародний прогностичний індекс; KM, Каплан-Мейєр; PFS, виживання без ознак прогресування захворювання; R-CHOP, ритуксимаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрисдин та преднізон.

*Випадки, де відмічено "так" в eCRF для екстранодального поліпшення; 14 пацієнти із екстранодальними сайтами 0 відмічені помилково.

Фігура 4

Перевага Gazyva у BCL2 транслокованих пацієнтів в GOYA

Фігура 5

Перевага Gazyva у пацієнтів, позитивних за експресією BCL2 білка в GOYA

Фігура 6

Перевага Gazyva у BCL2 транслокованих пацієнтів, які позитивні за експресією BCL2 білка в GOYA

Оцінка ефекту лікування у квадрантах, визначених за допомогою BCL2 IHC (поз/нег) та BCL2 FISH (поз/нег) в GOYA. Показано, що переваги Gazyva є специфічними для BCL2 IHC+/FISH+ пац.

Фігура 7

5 Перевага Gazyva у підгрупах GCB, визначених за допомогою різних граничних значень оцінка лінійного передбачення в GOYA

A: ФОРЕСТ діаграма 25 %-36 % граничне значення (%)

B: ФОРЕСТ діаграма 25 %-50 % граничне значення (%)

10 C: Перевага Gazyva у сильній-GCB підгрупі для первинної контрольної точки (INV-PFS) при граничному LPS <749.

CP* (95 % ДІ) у сильних-GCB GOYA пац

– PFS: 0,33 [0,18 – 0,63], p-значення=0,0007

Сильні-GCB пац представляють собою 25 % (n=233/933) всіх DLBCL пац в GOYA із LPS < 749.

15 Сильні-GCB пац покривають 43 % (n=233/540) GCB пац в GOYA

Фігура 8

Перевага Gazyva у GCB пацієнтів, які представляють собою BCL2 транслоковані та експресія білка BCL2 позитивна в GOYA.

Фігура 9

20 Перевага Gazyva в CD58 мутованих пацієнтів та/або пацієнтів із низькою експресією CD58 гена в GOYA.

Фігура 10

25 Оптимізація багатоваріантної стимуляції LPS граничного значення для G-CHOP переваги відносно R-CHOP на виживання без ознак прогресування захворювання у оцінюваних за допомогою біомаркера пацієнтів із COO аналізом (N=xx).

Оптимізація граничного значення LPS для ефекту лікування сильних-GCB в GOYA початкових даних.

30 *Багатоваріантне CP скореговане для лікування, Міжнародний прогностичний індекс, кількість циклів хіміотерапії (6 або 8), та географічний регіон. Синя лінія, точкове оцінювання CP, жовта лінія, 95 % ДІ; ДІ, довірчий інтервал; COO, клітина-попередник; CP, співвідношення ризиків; LPS, Оцінка лінійного передбачення.

Фігура 11

Молекулярна характеристика сильних-GCB пацієнтів[#] в GOYA.

35 Сильні-GCB пацієнти мають суттєво вище поширення характерних ознак FL соматичної мутації.

(A) Поширення характерних ознак FL соматичної мутації* (будь-який тип мутації).

(B) Поширення BCL2 Транслокацій[†]

40 [#]Іншими біомаркерами, оцінюваними для характеристики сильних- від слабких-GCB, де не було ідентифіковано достовірної відмінності для коефіцієнту поширення, були: за допомогою експресії гена, стромальні-1/2 профілі генної експресії, імунологічна відповідь 1/2 профілі генної експресії, CD20, та PTEN; за допомогою експресії білка, BCL2, MYC, та BCL2/MYC подвійні-експресори; та за допомогою транслокації гена, MYC транслокації та BCL2/MYC подвійний-удар. ABC, активована В-клітина; DLBCL, дифузна великоклітинна В-клітинна лімфома; FDR, рівень хибнопозитивних результатів; FISH, флуоресцентна гібридизація in situ; FL, фолікулярна лімфома; GCB, В-клітина зародкового центру; NGS, секвенування наступного покоління.

Фігура 12

Розподіл оптимального граничного значення LPS серед бутстреп зразків

Багатоваріантні бутстреп стимуляції для подальшої коректності тесту та генералізованості оптимального LPS, ідентифіковані за допомогою "мін.СР правила"

50 Надзвичайний пік серед бутстреп зразків відбувся при LPS=725

LPS розподіл із його унікальним піком, підтверджує коректність сигналу ефектів лікування

Оптимальне граничне значення LPS, яке свідчить про новий потенціально підтверджуюче дослідження, становить LPS ≤ 725

55 – Історично всі GOYA біомаркерні аналізи мали визначені сильні-GCB як < 749 (25 % пац в GOYA), включаючи біомаркерні аналізи, представлені в цьому OBRF

– n=4 пац із 725 < LPS < 749, всі G-CHOP (1 подія)

Фігура 13

Розрахунок за методом Каплан-Мейєра часу до наступного лікування лімфоми (Вторинна кінцева точка) у популяції всіх пацієнтів, первинно відібраних для лікування.

ДІ, довірчий інтервал; G-CHOP, обінутузумаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрисин та преднізон/преднізолон; CP, співвідношення ризиків; R-CHOP, ритуксимаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрисин та преднізон/преднізолон.

Фігура 14

5 Розрахунок за методом Каплан-Мейєра оціненого дослідником PFS за допомогою групи лікування у пацієнтів із СОО даними, розділені на підгрупи за підтипом СОО.

(A) GCB; (B) ABC; (C) Некласифіковані.

10 ABC, подібні до активованої В-клітини; ДІ, довірчий інтервал; СОО, клітина-попередник; GCB, Подібні до В-клітини зародкового центру; G-CHOP, обінутузумаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрисин та преднізон/преднізолон; CP, співвідношення ризиків; R-CHOP, ритуксимаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрисин та преднізон/преднізолон.

Даний винахід також посилається на наступні таблиці.

Таблиця 1

Початкові характеристики пацієнтів та захворювання (Популяція всіх пацієнтів, первинно відібраних для лікування)

Характеристика	G-CHOP (N=706)*	R-CHOP (N=712)*
Середній вік, роки (інтервал)	62,0 (18–86)	62,0 (18–83)
Чоловіки — кількість (%)	369 (52,3)	383 (53,8)
Географічний регіон — кількість (%)		
Азія	260 (36,8)	258 (36,2)
Західна Європа	211 (29,9)	215 (30,2)
Північна Америка	109 (15,4)	107 (15,0)
Східна Європа	97 (13,7)	99 (13,9)
Інші	29 (4,1)	33 (4,6)
ECOG PS — кількість (%)	n=705	n=712
0–1	618 (87,7)	613 (86,1)
2–3	87 (12,3)	99 (13,9)
Стадія за Ann Arbor — кількість (%)	n=706	n=711
I та II	170 (24,1)	171 (24,0)
III та IV	536 (75,9)	540 (75,8)
IPI група ризику — кількість (%)		
Низька/низька проміжна	376 (53,3)	409 (57,4)
Висока-проміжна	221 (31,3)	192 (27,0)
Висока	109 (15,4)	111 (15,6)
Заплановані цикли хіміотерапії — кількість (%)		
6	523 (74,1)	526 (73,9)
8	183 (25,9)	186 (26,1)
LDH підвищено — кількість (%)	n=705	n=708
	415 (58,9)	401 (56,6)
Екстранодальне поліпшення — кількість (%)†	484 (68,6)	468 (65,7)
Генералізована лімфаденопатія (≥7,5 см) — кількість (%)	261/703 (37,1)	262/710 (36,9)
Клітина-попередник	n=471‡	n=462‡
GCB	271 (57,5)	269 (58,2)
ABC	125 (26,5)	118 (25,5)
Некласифіковані	75 (15,9)	75 (16,2)

15 ABC, подібні до активованої В-клітини (підгрупа); ECOG PS, Східна об'єднана онкологічна група (п'ятибальна шкала оцінки загального стану онкохворого); G-CHOP, обінутузумаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрисин та преднізон/преднізолон; GCB, подібні до активованої В-клітини (підгрупа); IPI, Міжнародний прогностичний індекс; LDH, лактатдегідрогеназа; PET, позитронно-емісійна томографія; R-CHOP, ритуксимаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрисин та преднізон/преднізолон.

20 *n=706 для G-CHOP та n=712 для R-CHOP для всіх параметрів, якщо спеціально не вказано інше.

[†]Випадки, де відмічено "так" в eCRF для екстранодального поліпшення; 14 пацієнти із екстранодальними сайтами 0 відмічені помилково.

[‡]COO підтип класифікація пропущена для 485 пацієнтів (G-CHOP, 235; R-CHOP, 250); включаючи зразки із Китаю, які не можуть бути проаналізовані внаслідок відсутності ліцензії на експорт – аналіз цих зразків заплановано у найближчому майбутньому.

Таблиця 2

Зведені дані кінцевих точок ефективності (Популяція всіх пацієнтів, первинно відібраних для лікування)

Кінцева точка	Оцінка дослідником	
	G-CHOP N=706	R-CHOP N=712
Середній час спостереження, місяці (інтервал)	29,0 (0,1–56,6)	28,9 (0,1–56,2)
Оцінена дослідником PFS (первинна контрольна точка)	N=706	N=712
Пацієнти із подією, кількість (%)	201 (28,5)	215 (30,2)
3-х річне PFS, %	69,6	66,9
Стратифіковане CP (95 % ДІ) – P значення (логранг)*	0,92 (0,76–1,11), P =,3868	
IRC-оцінюване PFS	N=706	N=712
Пацієнти із подією, кількість (%)	171 (24,2)	186 (26,1)
3-х річне PFS, %	72,5	70,6
Стратифіковане CP (95 % ДІ), P значення (логранг)*	0,89 (0,72–1,10), P =,2736	
OS	N=706	N=712
Пацієнти із подією, кількість (%)	126 (17,8)	126 (17,7)
3-х річне OS, % (95 % ДІ)	81,2 (77,9–84,1)	81,4 (78,1–84,3)
Стратифіковане CP (95 % ДІ)*	1,00 (0,78–1,28)	
DFS in пацієнти із оцінена дослідником CR	n=397	n=369
Пацієнти із подією, кількість (%)	77 (19,4)	64 (17,3)
Стратифіковане CP (95 % ДІ)*	1,27 (0,91–1,77)	
Оцінена дослідником EFS	N=706	N=712
Події, кількість (%)	236 (33,4)	250 (35,1)
Стратифіковане CP (95 % ДІ)*	0,92 (0,77–1,11)	
Час до початку нового лікування лімфоми	N=706	N=712
Пацієнти із подією, кількість (%)	213 (30,2)	230 (32,3)
Пропорція без явища через 3 роки, % (95 % ДІ)	69,9 (66,2–73,2)	66,5 (62,7–70,1)
Стратифіковане CP (95 % ДІ)*	0,92 (0,76–1,11)	
Оцінена дослідником відповідь (із PET) після закінчення лікування [†]	n=669	n=665
ORR		
Пропорція, кількість (%)	518 (77,4)	518 (77,9)
Відносна різниця (95 % ДІ)	-0,47 (-5,01–4,08)	
CR		
Пропорція, кількість (%)	379 (56,7)	396 (59,5)
Різниця (95 % ДІ)	-2,90 (-8,27–2,48)	
Оцінена дослідником відповідь (без PET) після закінчення лікування [†]	N=706	N=712
ORR		
Пропорція, кількість (%)	577 (81,7)	572 (80,3)
Відносна різниця (95 % ДІ)	1,39 (-2,76–5,54)	
CR		
Пропорція, кількість (%)	248 (35,1)	241 (33,8)
Різниця (95 % ДІ)	1,28 (-3,74–6,30)	

ДІ, довірчий інтервал; CR, повна відповідь; DFS, виживання без ознак захворювання; EFS, безподійне виживання; G-CHOP, обінутузумаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрістин та преднізон/преднізолон; CP, співвідношення ризиків; IRC, Незалежний спостережний комітет;

ORR, сумарна ефективність терапії; OS, загальне виживання; PET, позитронно-емісійна томографія; PFS, виживання без ознак прогресування захворювання; R-CHOP, ритуксимаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрестин та преднізон/преднізолон.

- 5 *Стратифікаційними факторами були оцінка міжнародного прогностичного індексу та запланована кількість циклів CHOP (6 або 8).

[†]Відповідно до переглянутого критерію відповіді.¹³

Таблиця 3

Зведені дані АЕ, включаючи ступінь 3–5 та тяжкі АЕ, описані у $\geq 5\%$ пацієнтів в будь-якій групі (На рівні переважного терміну; Популяція для оцінки безпеки)

	G-CHOP (N=704), Кількість (%)		R-CHOP (N=703), Кількість (%)	
Кількість смертей з будь-якої причини	126 (17,9)		122 (17,4)	
Кількість пацієнтів, які вийшли із дослідження внаслідок АЕ	4 (0,6)		3 (0,4)	
Пацієнти із принаймні одним				
АЕ	683 (97,0 %)		657 (93,5)	
Ступінь 3–5 АЕ	519 (73,7)		455 (64,7)	
АЕ з летальним кінцем*	41 (5,8)		30 (4,3)	
Тяжкі АЕ	300 (42,6)		264 (37,6)	
Пов'язані із лікуванням АЕ	639 (90,8)		596 (84,8)	
АЕ, які приводять до відмови від будь-якого лікування	84 (11,9)		60 (8,5)	
АЕ, які приводять до зменшення дози для будь-якого лікування	145 (20,6)		138 (19,6)	
	Ступінь 3–5 АЕ	Тяжкі АЕ	Ступінь 3–5 АЕ	Тяжкі АЕ
Порушення з боку кровоносної та лімфатичної системи				
Загальна кількість пацієнтів із принаймні одним АЕ	415 (58,9)	135 (19,2)	348 (49,5)	113 (16,1)
Нейтропенія	325 (46,2)	52 (7,4)	268 (38,1)	40 (5,7)
Фібрильна нейтропенія	123 (17,5)	81 (11,5)	107 (15,2)	72 (10,2)
Лейкопенія	96 (13,6)	10 (1,4)	71 (10,1)	5 (0,7)
Анемія	51 (7,2)	9 (1,3)	53 (7,5)	6 (0,9)
Інфекції та зараження паразитами				
Загальна кількість пацієнтів із принаймні одним АЕ	135 (19,2)	121 (17,2)	109 (15,5)	94 (13,4)
Пневмонія	40 (5,7)	40 (5,7)	35 (5,0)	32 (4,6)

- 10 АЕ, небажане явище; G-CHOP, обінутузумаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрестин та преднізон/преднізолон; R-CHOP, ритуксимаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрестин та преднізон/преднізолон.

- 15 *Летальними АЕ, які були описані в більше ніж одного пацієнта в будь-якій групі, перераховані як переважні терміни, були: септичний шок (6 [0,9 %] пацієнти), пневмонія (5 [0,7 %]), смерть (невідомо причина; 3 [0,4 %]), легенева емболія (2 [0,3 %]) та крововилив у мозок (2 [0,3 %]) в G-CHOP групі та пневмонія (6 [0,9 %]), сепсис (3 [0,4 %]), крововилив у мозок (2 [0,3 %]) та смерть (невідомо причина; 2 [0,3 %]) в R-CHOP групі.

Таблиця 4

Вплив G-CHOP та R-CHOP на клінічні результати у сильних-GCB та всіх інших пацієнтів

Мультиваріантний аналіз CP (G відн. R)* [95 % ДІ]; р-значення 3-р коефіцієнт (%)	Сильні-GCB Пац (n=233) R-CHOP: n=121 G-CHOP: n=112	Всі Інші Пац (n=700) R-CHOP: n=341 G-CHOP: n=359
PFS	0,33 [0,18–0,63]; p=0,0007 R: 66 %; G: 88 %	0,99 [0,76–1,28]; p=0,9117 R: 66 %; G: 66 %
EFS	0,47 [0,28–0,78]; p=0,00344 R: 59 %; G: 80 %	1,01 [0,79–1,29]; p=0,9513 R: 63 %; G: 62 %
OS	0,41 [0,20–0,87]; p=0,019 R: 79 %; G: 92 %	1,10 [0,79–1,53]; p=0,582 R: 81 %; G: 78 %

*Скореговано для групи лікування, Міжнародний прогностичний індекс, кількість циклів хіміотерапії (6 або 8), та географічний регіон ДІ, довірчий інтервал; EFS, безподійне виживання; GCB, В-клітина зародкового центру; CP, співвідношення ризиків; OS, загальне виживання; PFS, виживання без ознак прогресування захворювання (оцінена дослідником); р, рік

Таблиця 5

Дослідження експозиції препарату

	G-CHOP (N=704), Кількість (%)	R-CHOP (N=703), Кількість (%)
Кількість отриманих доз обінутузабу або ритуксимабу, медіана (діапазон)	10 (1–10)	8 (1–8)
Пацієнти із модифікаціями для будь-якої дози обінутузабу або ритуксимабу*	222 (31,5)	210 (29,9 %)
Пацієнти із модифікаціями для доз обінутузабу або ритуксимабу в циклі 1*		
День 1	192/702 (27,4)	155/703 (22,0)
День 8	39/651 (6,0)	0
День 15	41/624 (6,6)	0
Пацієнти із затримками для доз обінутузабу або ритуксимабу > 7 днів	92 (13,1)	64 (9,1)
Пацієнти із ≥ 90 % запланованої інтенсивності дози обінутузабу або ритуксимабу	671 (95,3)	697 (99,1)
Пацієнти із ≥ 90 % запланованої інтенсивності дози Циклофосфаміду	642 (91,3)	647 (92,0)
Доксорубіцину	631 (89,8)	639 (90,9)
Преднізону	662 (94,0)	643 (91,5)
Вінкрестину	642 (91,3)	625 (88,9)
Тривалість експозиції обінутузабу або ритуксимабу, тижні, медіана (діапазон)	25,3 (1–32)	25,3 (0–32)
Кумулятивна доза обінутузабу або ритуксимабу в мг, медіана (діапазон)	10000 (998–10065)	5133,5 (515–8084)

5 G-CHOP, обінутузабу плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрестин та преднізон; R-CHOP, ритуксимаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрестин та преднізон.

*Включаючи припинення на інфузії та сповільнення швидкостей інфузій.

Таблиця 6

Кількість (та %) пацієнтів, які повідомили про АЕ будь-якого ступеню із частотою захворюваності принаймні 10 % (на рівні переважного терміну) в будь-якій групі лікування, перераховані за класом ураження органів і систем органів та переважним терміном (популяція для оцінки безпеки)

	G-CHOP (N=704), Кількість (%)	R-CHOP (N=703), Кількість (%)
Порушення з боку кровоносної та лімфатичної системи		
Загальна кількість пацієнтів із принаймні одним АЕ	451 (64,1)	389 (55,3)
Нейтропенія	340 (48,3)	286 (40,7)
Фібрильна нейтропенія	127 (18,0)	108 (15,4)
Лейкопенія	115 (16,3)	87 (12,4)
Анемія	95 (13,5)	99 (14,1)
Шлунково-кишкові порушення		
Загальна кількість пацієнтів із принаймні одним АЕ	428 (60,8)	410 (58,3)
Нудота	207 (29,4)	199 (28,3)
Закреп	165 (23,4)	172 (24,5)
Діарея	112 (15,9)	92 (13,1)
Блювота	103 (14,6)	74 (10,5)
Загальні порушення та стани ділянки введення		
Загальна кількість пацієнтів із принаймні одним АЕ	420 (59,7)	323 (45,9)
Втома	137 (19,5)	123 (17,5)
Пірексія	142 (20,2)	83 (11,8)
Озноб	133 (18,9)	37 (5,3)
Астенія	71 (10,1)	76 (10,8)
Травма, інтоксикація та процедурні ускладнення		
Загальна кількість пацієнтів із принаймні одним АЕ	281 (39,9)	204 (29,0)
Реакція, пов'язана з інфузією	254 (36,1)	165 (23,5)
Порушення харчування та обміну речовин		
Загальна кількість пацієнтів із принаймні одним АЕ	202 (28,7)	170 (24,2)
Знижений апетит	97 (13,8)	71 (10,1)
Порушення з боку нервової системи		
Загальна кількість пацієнтів із принаймні одним АЕ	336 (47,7)	299 (42,5)
Периферична нейропатія	88 (12,5)	89 (12,7)
Головний біль	75 (10,7)	57 (8,1)
Психіатричні порушення		
Загальна кількість пацієнтів із принаймні одним АЕ	107 (15,2)	83 (11,8)
Безсоння	76 (10,8)	58 (8,3)
Респіраторні, торакальні та середостінні порушення		
Загальна кількість пацієнтів із принаймні одним АЕ	232 (33,0)	197 (28,0)
Кашель	83 (11,8)	60 (8,5)
Розлади з боку шкіри та підшкірної жирової клітковини		
Загальна кількість пацієнтів із принаймні одним АЕ	226 (32,1)	226 (32,1)
Алопеція	145 (20,6)	142 (20,2)

АЕ, небажане явище; G-CHOP, обінутузумаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкристин та преднізон/преднізолон; R-CHOP, ритуксимаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкристин та преднізон/преднізолон.

Таблиця 7

Зведені дані АЕ особливого інтересу як переважні терміни або заздалегідь визначені категорії (Популяція для оцінки безпеки)

Категорія	Всі ступені		Ступені 3–5	
	G-CHOP (N=704), Кількість (%)	R-CHOP (N=703), Кількість (%)	G-CHOP (N=704), Кількість (%)	R-CHOP (N=703), Кількість (%)
Інфекції*	379 (53,8)	310 (44,1)	135 (19,2)	109 (15,5)
Опортуністичні інфекції†	13 (1,8)	15 (2,1)	8 (1,1)	9 (1,3)
Нейтропенія‡	398 (56,5)	338 (48,1)	384 (54,5)	324 (46,1)
Реакції, пов'язані з інфузією§	319 (45,3)	223 (31,7)	69 (9,8)	24 (3,4)
Реакції, пов'язані з інфузією (пов'язані з антитілом)§	273 (38,8)	174 (24,8)	53 (7,5)	16 (2,3)
Синдром лізису пухлини	4 (0,6)	4 (0,6)	4 (0,6)	4 (0,6)
Кардіологічні явища¶	75 (10,7)	53 (7,5)	33 (4,7)	20 (2,8)
Тромбоцитопенія¹	55 (7,8)	18 (2,6)	31 (4,4)	10 (1,4)
Вторинні злоякісні новоутворення**	15 (2,1)	15 (2,1)	12 (1,7)	13 (1,8)
Реактивація гепатиту В††	16 (2,3)	6 (0,9)	2 (0,3)	2 (0,3)
Прогресивна мультифокальна лейкоенцефалопатія	1 (0,1)	0	1 (0,1)	0
Перфорація шлунково-кишкового тракту‡‡	14 (2,0)	8 (1,1)	12 (1,7)	8 (1,1)
Явища перфорації	7 (1,0)	7 (1,0)	6 (0,9)	7 (1,0)
Абсцеси/інше	8 (1,1)	2 (0,3)	8 (1,1)	2 (0,3)
Геморагічні прояви§§	65 (9,2)	39 (5,5)	23 (3,3)	10 (1,4)

5

АЕ, небажане явище; G-CHOP, обінутузумаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкристин та преднізон/преднізолон; HBV, інфікування гепатитом В; MedDRA, Медичний словник термінології регуляторної діяльності; R-CHOP ритуксимаб плюс циклофосфамід, доксорубіцин, вінкристин та преднізон/преднізолон.

10 *Будь-який переважний термін для інфекцій та зараження паразитами класу системи органів.

†Стандартний MedDRA запит.

‡Нейтропенія та пов'язані ускладнення, описані як АЕ, не включаючи атипові лабораторні значення.

15 §Пов'язані із будь-яким інфузійним лікуванням та які відбуваються протягом /в межах 24 години інфузії.

¶Будь-який переважний термін для порушень класу ураження органів і систем органів.

20 **Будь-який переважний термін для новоутворень за класом ураження органів і систем органів доброякісні, злоякісні та невизначені (включаючи кисти та поліпи), які виникли через 6 місяців після першого прийому досліджуваного лікарського засобу.

††Принаймні одне підвищення рівня ДНК HBV ≥ 100 МО/мл або АЕ реактивації гепатиту В.

‡‡Стандартний MedDRA запит, що містить явища перфорації (переважні терміни для класу ураження органів і систем органів шлунково-кишкові порушення) та абсцеси та інші явища (переважні терміни для інших класів ураження органів і систем органів).

25 §§Стандартний MedDRA запит, що включає геморагічні цереброваскулярні стани, та геморагії (лабораторні та нелaboratorні терміни).

Приклад 1 – Загальні матеріали та методи

Опис аналіз NanoString LST

30 Якщо не вказано інакше, аналіз NanoString LST здійснюють в контексті даного винаходу відповідно до інструкцій виробника (NanoString Technologies, Inc., Seattle, WA, USA). Подальші відомості щодо здійснення аналізу представлені в Scott (2014 та 2015 loc cit.).

Загальний огляд аналізу COO

NanoString's LST аналіз експресії генів було розроблено для забезпечення ідентифікації COO підтипу на nCounter® системі аналізу. nCounter® Аналіз експресії генів разом із NanoString технологією забезпечує надзвичайно чутливий та надзвичайно мультиплексний спосіб виявлення мРНК із молекулярними бар-кодами, що називаються nCounter репортерні зонди без застосування зворотної транскрипції або ампліфікації (Geissloc. cit.). Виявлення мРНК ґрунтується на цифровому виявленні та безпосередньому молекулярному баркодуванню цільових молекул шляхом застосування пар зондів із кольоровим кодом. Пара зондів складається із репортерного зонду, який несе сигнал на його 5" кінці, та зонда захоплення. Кольорові коди несуть шість положень та кожне положення може бути одного із чотирьох кольорів, надаючи таким чином можливість для великої різноманітності міток, які можна змішувати разом в одній лунці для безпосередньої гібридизації із мішенню та які все ще можна індивідуально розділяти та ідентифікувати при зборі даних. В технології NanoString Reporter та Capture Probe застосовують репортерний зонд, який несе закодований кольором баркод, та зонд захоплення, який надає можливість комплексу іммобілізуватися для збору даних.

Виготовлені на замовлення LST пари зондів змішують із РНК дослідного зразку у великому надлишку до цільової мРНК для забезпечення того, що кожна мішень знайде пару зондів. Після гібридизації, надлишок нез'язаних зондів відмивають, і комплекси мішень/зонд іммобілізують на картриджі для збору даних. Збір даних здійснюють на цифровому аналізаторі nCounter®. Цифрові зображення обробляють та підраховують відліки баркодів у форматі значень, розділених комами (CSV), придатних для нормалізації зразка та аналізу даних.

Перед аналізом даних, кожен зразок нормували до еталонних відліків, отриманих від синтетичного РНК еталонного контрольного транскрипту та конститутивних генів.

Визначення COO статусу в зразках пацієнтів

LST аналіз генерує дані експресії генів для кожного пацієнта для 20 генів (див. Таблицю 5). П'ять із цих генів представляють собою конститутивні еталонні гени, тоді як 15 інших генів відрізняють GCB від ABC, специфічно, відомо, що вісім генів понадекспресуються в ABC-подібних DLBCL, та відомо, що сім генів понадекспресуються в GCB- подібних DLBCL (на основі Scott 2014 loc.cit.).

Таблиця 5

Перелік двадцяти генів в аналізі NanoString LST

Тип	Гени
Понадекспресуються в ABC- подібних DLBCL	TNFRSF13B; LIMD1; IRF4; CREB3L2; PIM2; CYB5R2; RAB7L1; CCDC50
Конститутивні гени	R3HDM1; WDR55; ISY1; UBXN4; TRIM56
Понадекспресуються в GCB- подібних DLBCL	MME; SERPINA9; ASB13; MAML3; ITPKB; MYBL1; S1PR2

Оцінка лінійного передбачення (LPS) розраховується для кожного пацієнта на основі даних експресії генів. LPS представляє собою зважену суму експресії гена із 20 генів в LST аналізі:

$$LPS(X) = \sum_j a_j X_j,$$

де x_j експресія гена для гена j та a_j представляє собою коефіцієнт для гена j .

Після цього LPS для кожного пацієнта порівнюють із заздалегідь визначеними пороговими значеннями для визначення DLBCL COO підтипу для пацієнта. Для індивідуальних LPS оцінок, визначають ймовірність стосовно того, чи пухлина можливо є частиною ABC підтипу або GCB підтипу. Пухлини із ймовірністю бути ABC більше, ніж 90 %, вважаються ABC, тоді як пухлини із ймовірністю бути GCB більше, ніж 90 %, вважаються GCB. Пухлини із ймовірністю бути ABC або бути GCB, менше, ніж менше 90 %, вважаються некласифікованими (Scott 2014 та 2015 loc. cit.)

Схеми лікування G-CHOP та R-CHOP

Пацієнти отримували лікування з використанням однієї із двох імунохімотерапічних схем лікування:

- G-CHOP (досліджувана група): CHOP хімотерапія в комбінації із обінутузумабом
- R-CHOP (контрольна група): CHOP хімотерапія в комбінації із ритуксимабом

Обінутузумаб та ритуксимаб вважаються досліджуваними медичними продуктами для цілей даного протоколу.

В досліджуваній групі, обінутузумаб будуть вводити шляхом в/в інфузії в абсолютній (фіксована) доза 1000 мг в День 1 кожного 21-денного циклу впродовж 8 циклів. Під час Циклу 1, обінутузумаб також будуть інфузувати в Дні 8 та 15. Введення обінутузумабу в ті дні, коли здійснюють як введення обінутузумабу, так і СНОР, слід завершити за принаймні 30 хвилин до початку здійснення хіміотерапії.

СНОР хіміотерапію можна вводити на наступний день після введення обінутузумабу, якщо тривалість інфузії обінутузумабу викликає необхідність здійснення СНОР інфузії на наступний день. СНОР хіміотерапія будуть здійснювати максимально впродовж 6 або 8 циклів, як описано в Розділі 4.5.3.a та Таблиці 5. Якщо потрібно вводити лише 6 циклів СНОР хіміотерапії (див. Таблицю 5), то Цикли 7 та 8 обінутузумабу будуть вводити у вигляді монотерапії на основі схеми кожен-21-день.

В контрольній групі дослідження, ритуксимаб в дозі 375 мг/м² будуть вводити шляхом в/в інфузії в День 1 кожного 21-денного циклу впродовж 8 циклів. Ритуксимаб будуть вводити перед СНОР, та інфузію слід завершити та спостерігати за пацієнта впродовж принаймні 30 хвилин до початку СНОР. СНОР можна здійснювати в День 2, якщо тривалість інфузії ритуксимабу викликає необхідність здійснення СНОР інфузії на наступний день. Якщо потрібно вводити лише 6 циклів СНОР хіміотерапії (див. Таблицю 5), то Цикли 7 та 8 ритуксимабу будуть вводити у вигляді монотерапії на основі схеми кожен-21-день.

Дозу ритуксимабу та хіміотерапії слід розраховувати на основі маси тіла пацієнта при скринінговій оцінці (від Дня -14 до Дня -1). Для змін > 10 % для маси тіла від скринінгу для наступних доз, дози ритуксимабу та хіміотерапії слід модифікувати відповідно. Вагу, яка запускає корегування дози, слід прийняти за нову еталонну масу для наступних корегувань доз.

Як вказано в Розділі 3.6.1.c, застосування G-CSF рекомендується відповідно ASCO, EORTC та ESMO вказівок для пацієнтів у віці ≥ 60 років та пацієнтів із супутньою патологією. Надзвичайно рекомендується в циклі 1 для всіх пацієнтів здійснювати лікування із G-СНОР.

Обінутузумаб (технічні дані)

а. Препарат

Обінутузумаб забезпечували в вигляді стерильного рідкого препарату з одноразовою дозою у скляному флаконі об'ємом 50 мл фармацевтичного ступеня чистоти, який містить номінально 1000 мг обінутузумабу (G3 матеріал). Приготовлений у вигляді препарату фармацевтичний продукт складається із 25 мг/мл діючої речовини (G3), приготовленої в гістидині, трегалозі та полуксамері 188. Флакон містить 41 мл (із перенаповненням 2,5 %).

Для більш докладних відомостей, див. інструкцію виробника Обінутузумабу.

б. Транспортування та зберігання

Рекомендованими умовами зберігання для фармацевтичного продукту обінутузумаб є температура від 2°C до 8°C в захищеному від світла місці. Термін хімічної та фізичної придатності після розкриття упаковки для розведень обінутузумабу в 0,9 % хлориді натрію (NaCl) був продемонстрований впродовж 24 годин при 2°C–8°C та при температурі навколишнього середовища та кімнатному освітленні. Приготований розведений продукт необхідно використати одразу. Якщо його не використовують одразу, то відповідальність за терміни придатності після розкриття упаковки та умови перед застосування покладаються на користувача та зазвичай не перевищують 24 години при 2°C–8°C. Обінутузумаб не можна заморожувати або струшувати. Перемішувати обережно. Всі процедури перенесення повинні виконуватися із строгим дотриманням асептичних методів. Не використовувати додатковий вбудований фільтр через потенційну абсорбцію.

Для більш докладних відомостей, див. інструкцію виробника Обінутузумабу.

в. Доза та схема застосування Обінутузумабу

Обінутузумаб будуть вводити шляхом в/в інфузії у вигляді абсолютної (фіксованої) дози 1000 мг в День 1 кожного 21-денного циклу впродовж 8 циклів. Обінутузумаб будуть вводити перед СНОР, та за пацієнтами потрібно спостерігати 30 хвилин перед початком СНОР. Якщо СНОР не завершено в День 1 у зв'язку із великою тривалістю терапії обінутузумабом, то СНОР хіміотерапію можна вводити в День 2. Під час Циклу 1, обінутузумаб також будуть інфузувати в Дні 8 та 15. Якщо СНОР хіміотерапію не здійснюють в Цикли 7 та 8, то обінутузумаб будуть вводити як монотерапію.

г. Приготування Обінутузумабу

Фармацевтичний продукт Обінутузумаб, призначений для в/в інфузії, готують шляхом розведення фармацевтичного продукту в інфузійному мішку, що містить 0,9 % NaCl, до кінцевої концентрації лікарського засобу 4 мг/мл. Використовуючи інфузійний мішок об'ємом 250 мл, що містить 0,9 % NaCl, відкачують та удаляють 40 мл хлориду натрію. Відбирають 40 мл обінутузумабу із одного скляного флакону та ін'єкують в інфузійний мішок (викидають будь-яку

невикористану порцію обінутузумабу, що залишилася у флаконі). Обережно перевертають інфузійний мішок для перемішування розчину; не струшують.

Є сумісними та можуть застосовуватися набори для введення із полівінілхлоридом (PVC), поліуретаном (PUR), або поліетилен як поверхня, яка контактує із продуктом та в/в мішки із поліолефіном, поліпропіленом (PP), PVC або поліетиленом, як поверхня, яка контактує із продуктом.

Не використовувати обінутузумаб після дати придатності лікарського засобу, вказаної на упаковці.

д. Введення Обінутузумабу

Обінутузумаб слід вводити пацієнтам в клінічних умовах (в стаціонарних умовах або пацієнтам на амбулаторному лікуванні), в умовах, де доступні для швидкого застосування екстрені реанімаційні заходи та пацієнти повинні знаходитися під ретельним наглядом дослідника весь час. Не вводити в/в струминно або болюсно. Після закінчення першої інфузії, в/в лінію або центральний катетер слід залишати на місці впродовж ≥ 2 годин для забезпечення можливості в/в введення лікарських засобів, при необхідності. Якщо протягом 2 годин відсутні прояви небажаних явищ, то в/в лінію може бути видалена або центральний венозний катетер може бути вилучено. Для подальших інфузій, доступ (або через в/в лінію або центральний венозний катетер) повинен залишитися на місці впродовж принаймні 1 години після закінчення інфузії, та якщо протягом 1 години відсутні прояви небажаних явищ, то в/в доступ може бути видалений.

Будь-ласка, зверніть увагу на Розділ 4.3.5, Загальні заходи безпеки (для інструкцій щодо застосування премедикації та профілактики синдрому лізису пухлини), перед введенням обінутузумабу. Інструкції щодо першої та подальших інфузій обінутузумабу представлені в Таблиці 1.

Таблиця 8

Введення першої та наступних інфузій обінутузумабу

Перша Інфузія (День 1)	Подальші інфузії
Починають інфузію при та початковій швидкості 50 мг /г. Якщо не розвивається інфузійної реакції, то підвищують швидкість інфузії із кроком 50-мг/г кожні 30 хвилин, максимально до 400 мг/г. Якщо розвивається інфузійна реакція, то зупиняють або сповільнюють інфузію. Вводять ліки проти інфузійної реакції та симптоматичну терапію відповідно до встановленого протоколу. Відновлюють інфузію при зменшеній на 50 % швидкості (швидкості, які застосовували в період появи реакції гіперчутливості або реакції, пов'язаної з інфузією), якщо реакція вирішена.	Якщо пацієнт відчував інфузійну реакцію протягом попередньої інфузії, то починають на тій самій швидкості, як і перша інфузія (50 мг/г) та дотримуються вказаних подальших інструкцій. Якщо пацієнт добре переносив попередню інфузію (визначену як відсутність реакцій Стадії 2 під час кінцевої швидкості інфузії (100 мг/г), то починають інфузію при швидкості 100 мг/г. Якщо не розвивається інфузійної реакції, то підвищують швидкість інфузії із кроком 100-мг/г кожні 30 хвилин, максимально до 400 мг/г. Якщо розвивається інфузійна реакція, то зупиняють або сповільнюють інфузію. Вводять ліки проти інфузійної реакції та симптоматичну терапію відповідно до встановленого протоколу. Відновлюють інфузію при зменшеній на 50 % швидкості (швидкості, які застосовували в період появи реакції гіперчутливості або реакції, пов'язаної з інфузією), якщо реакція вирішена.

Обінутузумаб слід вводити як повільну в/в інфузію через виділену лінію. Слід застосовувати в/в інфузійні насоси для контролю швидкості інфузії обінутузумабу. Не вводити в/в струминно або болюсно.

В ті дні, коли вводять як обінутузумаб, так і СНОР, обінутузумаб будуть вводити перед СНОР та за пацієнтами слід спостерігати 30 хвилин перед початком СНОР. СНОР хіміотерапію можуть вводити на наступний день, якщо її не можна було ввести в той самий день, що і вводили обінутузумаб. Перед кожною інфузією обінутузумабу, яку здійснюють в комбінації із СНОР (День 1 Циклів 1–6 або Циклів 1–8), пацієнти слід призначати День 1 дозу перорально преднізону (100 мг), визначену для кожного циклу схеми прийому СНОР. Профілактичне

застосування кортикостероїдів (наприклад, 100 мг в/в преднізолону або еквіваленту) також можна розглядати для пацієнтів, які мають високий ризик щодо IRR, якщо дослідник вважає це доцільним, та його також слід вводити перед інфузією обінутузумабу.

Щодо керування IRR та анафілаксією, див. Розділ 4.3.6.a та Таблицю 3.

5 Хіміотерапія CHOP

CHOP розглядається як стандартна хіміотерапія для лікування DLBCL. Шляхом центрального вибору, сайти будуть вибирати перед початком дослідження, незалежно від того, чи будуть вводити 8 циклів або 6 циклів CHOP хіміотерапії.

а Дозування та Введення

10 CHOP хіміотерапія складається із в/в циклофосфаміду, в/в доксорубіцину, вінкрестину, який вводять шляхом в/в струминно, та перорального преднізону або преднізолону. Стандартну CHOP будуть вводити впродовж шести - восьми 21-денних циклів. CHOP хіміотерапію в Цикли 7 та 8 будуть вводити відповідно до передбачуваного вибору центру для 6 відносно 8 запланованих циклів.

- 15 - Циклофосфамід 750 мг/м² вводять внутрішньовенно в День 1
- Доксорубіцин 50 мг/м² вводять внутрішньовенно в День 1
- Вінкрестин 1,4 мг/м² вводять в/в струминно День 1 із рекомендованим ковпачком 2,0 мг
- Преднізон 100 мг/добу перорально (ПО) в Дні 1–5

20 Примітка: Дозу преднізону визначають відповідно до рекомендацій Національної мережі багатопрофільних онкологічних установ США (2010), які ґрунтуються на Cruzman та ін., 1999; Hiddemann та ін., 2005. Преднізон може бути замінений на преднізолон (1:1-перетворення, 100 мг) у країнах, де преднізон недоступний або не є терапією вибору або він може бути замінений на 80 мг метилпреднізолону у країнах або сайтах, де нема доступу до преднізону/преднізолону.

25 CHOP будуть вводити відповідно до стандартних процедур приготування препаратів та інфузії в кожному досліджуваному сайті та після інфузії ритуксимабу або обінутузумабу. Слід враховувати посилання на специфічні листки-вкладиші в упаковках що вказівок приготування, введення та зберігання. За рішення дослідника, доза вінкрестину може бути обмежена на 2 мг. Для пацієнтів у віці ≥ 70 років, доза вінкрестину може бути обмежена на 1,5 мг. BSA може бути обмежений на 2 м² відповідно до встановлених стандартів.

30 Якщо обінутузумаб або ритуксимаб та CHOP призначено вводити в один і той самий день, то рекомендується, що преднізон (100 мг) вводять перед інфузією обінутузумабу або ритуксимабу. Введення Обінутузумабу або ритуксимабу слід завершити принаймні за 30 хвилин до початку введення CHOP (циклофосфамід, вінкрестин та адриаміцин) інфузій. Якщо для дослідника або сайту є сильно переважним (наприклад, із логістичних міркувань), то введення ритуксимабу або обінутузумабу дозволяють за один день до введення CHOP із премедикацією (визначено в Розділі 4.3.5). Також дозволяється розділити інфузію антитіла (ритуксимаб або обінутузумаб) на 2 дні, якщо пацієнт має високий ризик IRR (високе пухлинне навантаження, висока кількість периферичних лімфоцитів). Також, у тих пацієнтів, які відчують небажане явище під час інфузії обінутузумабу або ритуксимабу, введення обінутузумабу може

40 продовжуватися на наступний день, при необхідності. Якщо в Цикл 1 День 1 дозу обінутузумабу розділяють, то обидві інфузії повинні відбутися із належною премедикацією та ти при швидкості першої інфузії (Будь-ласка, див. Таблицю 2). Якщо CHOP починається пізніше Дня 1 циклу, то в цьому випадку запланований День 1 наступного циклу слід відраховувати від дня, коли дійсно розпочалося CHOP, для підтримання регулярного інтервалу хіміотерапії 21 день.

45 Приклад 2 – Обінутузумаб або Ритуксимаб (плюс CHOP) у раніше нелікованих DLBCL (опис GOYA (B021005) фази 3 клінічного дослідження)

Пацієнти

Пацієнтами, які підпадають під умови, були пацієнтів віком ≥ 18 років із: раніше нелікованим, гістологічно задокументованим, CD20-позитивним DLBCL (як оцінено за допомогою місцевої патологоанатомічної лабораторії); ≥ 1 двомірно виміряного ураження ($> 1,5$ см найбільший розмір на сканування комп'ютерною томографією [КТ]); Східна об'єднана онкологічна група (п'ятибальна шкала оцінки загального стану онкохворого) 0–2; адекватною гематологічною картиною, функцією печінки та нирок; фракцією викиду лівого шлуночка ≥ 50 %; та оцінкою Міжнародного прогностичного індексу (IPI) ≥ 2 (та пацієнти із IPI оцінкою 1-річною ≤ 60 років, із генералізованою лімфаденопатією або без неї, та ті пацієнти із IPI оцінкою 0 та генералізованою лімфаденопатією, тобто, одне ураження $\geq 7,5$ см). Повні критерії включення / виключення докладно описані нижче. Всі пацієнти надавали письмову інформовану згоду.

Повні критерії включення та виключення

Пацієнти повинні відповідати наступним критеріям для включення в дослідження:

60 1. Письмова інформована згода.

2. Раніше нелікована CD20-позитивна дифузна великоклітинна В-клітинна лімфома (DLBCL), гістологічно задокументована з використанням наступних аспектів:

а. Заключення гістопатологічного дослідження повинен бути доступним для огляду та тканинний блок відправлений для ретроспективного центрального підтвердження.

5 б. Переважними є зафіксовані у формаліні залиті у парафін тканинні блоки; однак, у країнах, які використовують інший фіксатор, прийнятними будуть будь-який тканинний блок та включене зазначення типу фіксатора.

в. Якщо тканинний блок недоступний, прийнятними будуть 15 непофарбованих зрізів (товщиною 3–5 мкм).

10 г. Необов'язкове сховище клінічних зразків Roche та потрібні дослідницькі зразки біомаркерів будуть отримані із того самого тканинного блоку. Якщо центральне підтвердження не може бути здійснено на наданому матеріалі, то можуть бути запитані пофарбовані зрізи, використані для діагностики.

15 3. Пацієнти в групі ризику захворювання згідно із Міжнародним прогностичним індексом (IPI), які характеризуються одним із наступних: високий, високий-проміжний або низький-проміжний.

а. Пацієнти в групі із низьким ризиком придатні, але повинні мати IPI оцінку 1, незалежно від генералізованої лімфаденопатії, або IPI оцінку 0 із генералізованою лімфаденопатією, визначену як одне ураження $\geq 7,5$ см.

20 б. Примітка: пацієнти із IPI 1 внаслідок віку окремо (тобто, пацієнти віком > 60 років без інших факторів ризику) без генералізованої лімфаденопатії непридатні для цього дослідження.

4. Принаймні одне двовірно виміряне ураження, визначене як $> 1,5$ см у найбільшому розмірі на комп'ютерній томограмі.

5. Здатність та готовність дотримуватися процедур протоколу дослідження.

6. Вік ≥ 18 років.

25 7. Східна об'єднана онкологічна група (п'ятибальна шкала оцінки загального стану онкохворого) 0, 1, або 2.

8. Фракція викиду лівого шлуночка $\geq 50\%$ на багатопроєкційному радіоізотопному скануванні серця або серцевій ехокардіограмі.

30 9. Адекватна гематологічна функція (незалежно під основного захворювання, як встановлено за допомогою інтенсивного ураження кісткового мозку або внаслідок спленомегалії, вторинної відносно задіяння селезінки внаслідок DLBCL на дослідника), визначено, як вказано нижче:

а. Гемоглобін ≥ 9 г/дл;

б. Абсолютна кількість нейтрофілів $\geq 1,5 \times 10^9/\text{л}$;

35 в. Кількість тромбоцитів $\geq 75 \times 10^9/\text{л}$.

10. Для чоловіків, які не є хірургічно стерильними: згода застосовувати бар'єрний метод контрацепції під час періоду лікування та аж до ≥ 3 місяців після останньої дози обінутузумабу або ритуксимабу, або відповідно до правил, прийнятих у закладі для CHOP хіміотерапії, залежно від того, який триває довше, та згода вимагати, щоб їх партнери застосовували додатковий метод контрацепції, такий як пероральні контрацептиви, внутрішньоматкова спіраль, бар'єрний метод або сперміцидний гель.

40 11. Для жінок репродуктивного віку, які не є хірургічно стерильними: згода застосовувати два адекватні методи контрацепції, такі як пероральні контрацептиви, внутрішньоматкова спіраль, або бар'єрний метод контрацепції в комбінації із сперміцидним гелем під час періоду лікування та аж ≥ 12 місяців після останньої дози обінутузумабу або ритуксимабу, або відповідно до правил, прийнятих у закладі для CHOP хіміотерапії, залежно від того, який триває довше.

Пацієнти, які відповідають будь-якому із наступних критеріїв, вилучають із включення в дослідження:

50 1. Важні алергічні або анафілактичні реакції в анамнезі на гуманізовані або мишині моноклональні антитіла, або відома чутливість або алергія на мишині продукти або будь-який компонент CHOP або обінутузумаб.

2. Протипоказ до будь-якого із індивідуальних компонентів CHOP, включаючи попередній прийом антрациклінів.

55 3. Пацієнти із трансформованою лімфомою та пацієнти із фолікулярною лімфомою на стадії 3b.

4. Попереднє лікування для DLBCL, за винятком біопсії лімфовузлів або локального опромінення.

60 5. Попереднє лікування із застосуванням цитотоксичних лікарських заборів або ритуксимабу для іншої патології (наприклад, ревматоїдного артриту) або попереднє застосування антитіла до CD20.

6. Попереднє застосування будь-якого моноклонального антитіла впродовж 3 місяців до початку циклу 1.

7. Застосування кортикостероїду > 30 мг/добу преднізону або еквіваленту, для інших цілей, які відрізняються від контролю симптомів лімфоми.

5 а. Пацієнти, які отримують лікування кортикостероїдом в дозі ≤ 30 мг/добу преднізону або еквіваленту, повинні бути задокументовані на стабільній дозі тривалістю принаймні 4 тижні перед рандомізацією (цикл 1, день 1).

б. Якщо лікування глюкокортикоїдом терміново необхідно для контролю симптомів лімфоми перед початком досліджуваного лікування, то преднізон 100 мг або еквівалент можуть вводити максимально протягом 5 днів, але всі оцінки пухлин повинні бути здійснені до початку лікування глюкокортикоїдом.

8. Первинна лімфома центральної нервової системи (ЦНС) та вторинне ураження ЦНС лімфомою, лімфома із клітин зони мантиї, або гістологічне підтвердження трансформації в лімфому Беркіта, первинна медіастинальна DLBCL, первинна випінна лімфома, плазмобластна лімфома та первинна шкірна DLBCL.

9. Вакцинація живими вакцинами впродовж 28 днів перед рандомізацією.

10. Будь-яка дослідницька терапія впродовж 28 днів перед початком циклу 1.

11. Інші злоякісні новоутворення в анамнезі, які можуть впливати на дотримання протоколу або інтерпретацію результатів.

20 а. Пацієнти із терапевтично лікованою базальною або плоскоклітинною карциномою в анамнезі, або меланомою шкіри або in-situ раком шийки матки в будь-який час перед початком дослідження є придатними.

б. Пацієнти із будь-якими іншими злоякісними новоутвореннями, які лікували хірургічно лише на видалення та злоякісне новоутворення, яке знаходиться в ремісії без лікування впродовж ≥ 5 років до включення, є придатними.

12. Існування суттєвих, неконтрольованих супутніх захворювань, які можуть впливати на дотримання протоколу або інтерпретацію результатів, включаючи значне серцево-судинне захворювання (таке як серцеве захворювання класу III або IV Нью-Йоркської асоціації кардіологів, інфаркт міокарда впродовж останніх 6 місяців, нестабільні аритмії або нестабільна стенокардія) або захворювання легень (включаючи обструктивне захворювання легень та бронхоспазм в анамнезі).

13. Недавнє обширне хірургічне втручання (впродовж 4 тижнів перед початком циклів 1), яке не пов'язане із діагностуванням.

14. Будь-яке із наступних аномальних лабораторних значень (якщо будь-які із цих аномальностей не обумовлені основною лімфомою):

а. Креатинін $> 1,5$ рази вище верхньої межі норми (ULN; за винятком тих випадків, коли нормальний креатиніновий кліренс), або розрахований креатиніновий кліренс < 40 мл/хв (використовуючи формулу Кокрофта-Голта).

б. Аспартатамінотрансфераза або аланінамінотрансфераза $> 2,5 \times \text{ULN}$.

40 в. Загальний білірубін $\geq 1,5 \times \text{ULN}$: Пацієнти із задокументованою хворобою Гілберта можуть бути включені, якщо загальний білірубін становить $\leq 3,0 \times \text{ULN}$.

г. Міжнародний коефіцієнт нормалізації $> 1,5 \times \text{ULN}$ за відсутності антикоагулянтної терапії.

д. Частковий тромбопластиновий час або активований частковий тромбопластиновий час $> 1,5 \times \text{ULN}$ за відсутності вовчакового антикоагулянта.

45 15. Відома активна бактеріальна, вірусна, грибова, мікобактеріальна, паразитична або інша інфекція (за винятком грибкових інфекцій нігтьових пластинок) або будь-який основний епізод інфекції, що потребує лікування внутрішньовенними антибіотиками або госпіталізації (що стосується завершення курсу антибіотиків, за винятком випадку, коли це проти пухлинної гарячки) впродовж 4 тижнів перед початком циклу 1.

50 16. Пацієнти із підозрюваним активним або латентним туберкульозом.

а. Латентний туберкульоз повинен бути підтверджений позитивним аналізом вивільнення гамма-інтерферону.

17. Позитивний тест, який вказує на хронічне інфікування гепатитом В (визначений як позитивна HBsAg серологія).

55 а. Пацієнти із прихованим або попереднім інфікуванням гепатитом В (визначений як позитивне загальне антитіло до корового антигену вірусу гепатиту та негативний HBsAg) можуть бути включені, якщо неможливо виявити ДНК HBV. Ці пацієнти повинні надати згоду на щомісячні тестування ДНК.

18. Позитивні результати тесту на гепатит С (серологічне тестування HCV антитіла).

а. Пацієнти, позитивні за HCV антитілом, придатні лише в тому випадку, якщо полімеразна ланцюгова реакція негативна щодо РНК HCV.

19. Відомий в анамнезі серопозитивний статус ВІЛ.

а. Для пацієнтів із невідомим ВІЛ статусом, тестування ВІЛ будуть здійснювати при скринінгу, якщо це вимагається місцевими нормативними документами.

20. Позитивні результати на Т-лімфотропний вірус людини (HTLV).

а. HTLV тестування необхідне для пацієнтів в регіонах в ендемічних країнах (Японія та Меланезія, та країнах Карибського басейну, Південної Америки, Центральної Америки, та країні Африки на південь від Сахари).

21. Пацієнти із підтвердженою прогресивною мультифокальною лейкоенцефалопатією в анамнезі.

22. Вагітність або лактація.

23. Ймовірна тривалість життя <12 місяців.

План дослідження та лікування

GOYA представляє собою багатоцентрове, відкрите, рандомізоване, дослідження фази 3. Пацієнтів рандомізували (1:1 співвідношення) для отримання восьми 21-денних циклів або G (1000 мг внутрішньовенно [в/в] в дні 1, 8 та 15 циклу 1, та в день 1 циклів 2–8), або R (375 мг/м² в/в в день 1, цикли 1–8), плюс 6 або 8 цикли CHOP в наступних дозах: циклофосфамід 750 мг/м² в/в (день 1); доксорубіцин 50 мг/м² в/в (день 1); вінкрестин 1,4 мг/м² в/в (день 1, максимально 2,0 мг); та преднізон 100 мг/добу перорально (днів 1–5). Кількість CHOP циклів для обох груп погоджували заздалегідь із кожним досліджуваним сайтом; якщо вводили лише 6 CHOP циклів, то антитіло вводили у вигляді монотерапії впродовж циклів 7–8. Заздалегідь запланована променева терапія в початкових сайтах генералізованої лімфаденопатії або екстранодального захворювання дозволяли впродовж 8 тижнів дня 1 останнього циклу антитіла та після завершення оцінок в кінці курсу лікування. Деталі премедикації, дозволені супутніх терапій та дозволені причин щодо затримок / зменшення дозі в додатку. Рандомізацію здійснювали за допомогою інтерактивної системи голосового зв'язку із стратифікацією відповідно до кількості запланованих циклів хіміотерапії (6/8 циклів CHOP), IPI оцінки та географічного регіону (Західна Європа, Східна Європа, Південна та Центральна Америка, Північна Америка, та Азія та інші).

GOYA здійснювали відповідно до Європейської Директиви з клінічних досліджень (для європейських центрів) та Міжнародної конференції із гармонізації вимог щодо належної клінічної практики. Протокол отримав дозволи комітетів з етики центрів, які приймають участь в дослідженні, та був зареєстрований на ClinicalTrials.gov (NCT01287741).

Премедикації, змінення доз та дозволені терапії

Всі пацієнти отримали премедикацію перорально ацетамінофеном та антигістамінним перед введення обінутумабу (G) або ритуксимабу (R). Рекомендується, що введення циклофосфаміду, доксорубіцину, вінкрестину та преднізону (CHOP) починають принаймні через 30 хвилин після введення G або R. В кожен цикл, коли G або R вводять із CHOP, в день 1 вводять перорально дозу преднізону перед інфузією антитіла. Додатково також можна проводити терапію глюкокортикоїдами пацієнтам, які мають високий ризик реакцій, пов'язаних з інфузією. Профілактика лізису пухлини (достатня гідратація та аллопуринол) рекомендується для пацієнтів із високим пухлинним навантаженням та тих, які мають високий ризик лізису пухлини. Дози для лікування затримують аж до 2 тижнів у випадку стадії 3 або 4 гематологічної токсичності або ступеню 2–4 не-гематологічної токсичності; якщо проблема токсичності не вирішується, то пацієнт припиняє досліджуване лікування. Зменшення доз дозволені для хіміотерапії, але не для G або R.

Профілактика із використанням G-CSF рекомендується для пацієнтів віком ≥ 60 років та/або із супутніми захворюваннями та під час циклу 1 для всіх пацієнтів в групі G-CHOP. G-CSF також дозволений для лікування нейтропенії. Заборонено застосування хіміотерапії (яка відрізняється від CHOP), імунотерапії, гормональної терапії (яка відрізняється від контрацептивів, гормональнозамісної терапії, або мегестролацетату), та інших терапій, призначених для лікування лімфоми (стосовно променевої терапії, див. основний текст).

Кінцева точки дослідження та оцінювання

Первинною кінцевою точкою дослідження була оцінене дослідником виживання без ознак прогресування захворювання (PFS), визначене як час від дати рандомізації до першого прояву прогресування захворювання, рецидиву або смерті з будь-якої причини. Для виключення помилок та підтримки первинного аналізу, PFS також оцінювали за допомогою Незалежного спостережного комітету (IRC). Вторинні кінцеві точки включали загальне виживання (OS), безподійне виживання (EFS), показник CR (повної відповіді), сумарну ефективність терапії (ORR, включаючи CR та часткову відповідь), виживання без ознак захворювання (DFS),

тривалість відповіді, час до наступного лікування лімфоми (TTNT) та безпеку. PFS також аналізували в підгрупах DLBCL клітин-попередників (COO) (подібні до В-клітини зародкового центру [GCB], подібні до активованої В-клітини [ABC], та некласифіковані; пошуковий аналіз). COO класифікація ґрунтується на профілюванні експресії генів із використанням NanoString Research Use Only Lymphoma Subtyping Test (NanoString Technologies, Inc., Seattle, WA, USA).

Відповідь пухлини та прогресування оцінювали дослідником із використанням регулярних клінічних та лабораторних досліджень та КТ, відповідно до відповідно до Переглянутих критеріїв оцінки результатів лікування злоякісних лімфом (Cheson, J Clin Oncol 25, 2007, 579-586). Для тих пацієнтів із позитронно-емісійною томографією з використанням радіофармпрепарату ^{18}F -фтордезоксиглюкози (FDG-PET) (обов'язкова в сайтах із PET сканером), здійснювали окрему оцінку відповіді, включаючи результати FDG-PET. Аналіз первинної контрольної точки ґрунтувався на оцінці всіх пацієнтів за допомогою загальноприйнятої КТ. Відповідь оцінювали через 4–8 тижнів (КТ) або 6–8 тижнів (FDG-PET) після останнього лікування дослідження, або швидке у випадку раннього припинення.

Безпеку оцінювали шляхом моніторингу та запису всіх небажаних явищ (AE) та тяжких AE (SAE), включаючи аномалії, ідентифіковані на основі лабораторних досліджень, оцінок життєво-важливих показників та медичного огляду. AE класифікували за ступенями із використанням Загальних термінологічних критеріїв небажаних явищ Національного інституту онкології США v4.0. Оцінка лабораторних даних про безпеку включала загальний аналіз крові та біохімічний аналіз крові, та тестування імунологічних параметрів. Незалежний комітет із моніторингу даних (IDMC) здійснював періодичний огляд безпеки.

Статистичний аналіз

Розраховували розмір зразка для надання можливості визначення 25 % зменшення ризику прогресування захворювання, рецидиву або смерті із G-CHOP відносно R-CHOP (тобто, PFS співвідношення ризиків [CP] для G-CHOP в порівнянні із R-CHOP 0,75), із двостороннім альфа рівнем 0,05 та 80 % ефективністю. Для досягнення цього та для надання можливості підрахунку щорічного коефіцієнту вибуття 5 %, необхідно 405 PFS явищ для первинного аналізу, для цього потрібно включення 1400 пацієнтів впродовж 3 років.

Оцінювання ефективності здійснювали на популяції всіх пацієнтів, первинно відібраних для лікування (ITT), яка включала всіх рандомізованих пацієнтів. Популяція для аналізу безпеки включала всіх пацієнтів, які отримували будь-який досліджуваний лікарський засіб (антитіло або CHOP). Порівняння досліджуваних PFS здійснювали з використанням двостороннього рівня 0,05 стратифікованого логранг тесту. Метод Каплан-Мейєр застосовували для оцінки PFS розподілу для кожної лікуваної групи. Оцінювані результати лікування виражали як CP, використовуючи стратифіковану модель пропорційних ризиків Кокса, включаючи 95 % довірчі інтервали (ДІ).

IDMC оцінювали ефективність та безпеку в трьох формальних проміжних аналізах; два для доцільності та один для ефективності. В заздалегідь запланованому аналізі підгруп оцінювали вплив вибраних початкових характеристик пацієнтів, включаючи COO підтип, на PFS.

Результати

Загальний огляд

Після спостереження в середньому впродовж 29 місяців, кількість оцінених дослідником PFS явищ була подібною із G (201, 28,5 %) та R (215, 30,2 %); стратифіковане співвідношення ризиків становило 0,92 (95 % довірчий інтервал, 0,76-1,11; $P = .39$); 3-х річне PFS показник становив 70 % та 67 %, відповідно. Вторинні кінцеві точки незалежно переглянутих PFS, інших часів до розвитку подій кінцевих точок, та частоти об'єктивних відповідей пухлин були подібними між групами. В пошукових аналізах підгруп, пацієнти із підтипом подібних до В-клітин зародкового центру мали кращий PFS, ніж подібні до активованих В-клітини, незалежно від лікування. Частоти небажаних явищ ступенів 3–5 (AE; 73,7 % відн. 64,7 %) та тяжких AE (42,6 % відн. 37,6 %) була вищою із G-CHOP. Частоти фатальних AE становили 5,8 % для G-CHOP та 4,3 % для R-CHOP. Найбільш поширеними AE були нейтропенія (G-CHOP, 48,3 %; R-CHOP, 40,7 %), реакції, пов'язані з інфузією (36,1 %; 23,5 %), нудота (29,4 %; 28,3 %), та закріп (23,4 %; 24,5 %).

Характеристики пацієнтів та лікування

Пацієнти знаходилися в 207 центрах в 29 країнах. В цілому 1418 пацієнтів було рандомізовано за період між липнем 2011 р. та червнем 2014 р. для отримання або G-CHOP ($n=706$) або R-CHOP ($n=712$), та 1188 пацієнтів (G-CHOP, 587; R-CHOP, 601) завершило заплановане лікування (Фіг. 1). AE були основною причиною припинення лікування в рамках дослідження (антитіло) в обох групах, та це було описано більш часто в G-CHOP групі. Відміна

лікування в рамках дослідження (антитіло) в результаті прогресування захворювання спостерігалось приблизно в два рази частіше в R-CHOP групі в порівнянні із G-CHOP групою.

Демографічні та початкові характеристики захворювання були добре збалансовані між двома групами (Таблиця 1). Інформація щодо СОО підгруп була доступна для 933 пацієнтів; розподіл за підтипами був добре збалансований та відсутня клінічно значимі відмінності між групами в межах СОО підтипів. Причинами відсутності інформації СОО були: обмежена ліцензія на експорт китайських зразків, що перешкоджає оцінці біомаркерів (n=252), CD20-позитивна DLBCL, не підтверджена центральною лабораторією (n=102; слід звернути увагу, що ці пацієнти були збалансовані між лікованими групами: G-CHOP, n=53; R-CHOP, n=49), та відсутня/неадекватна тканина (n=131).

Середня тривалість експозиції становила 25,3 (діапазон, 1–32) тижнів для G та 25,3 (0–32) тижнів для R. Інтенсивність дози G та R перевищувала 90 % для 95,3 % та 99,1 % пацієнтів, відповідно. Більшість пацієнтів в обох групах (> 88 %) отримали більше, ніж 90 % запланованої дози в кожного CHOP компоненту. Затримка доз антитіла була більш поширеною в G-CHOP групі: принаймні одна затримка ≤ 7 днів (G-CHOP, 34,9 %; R-CHOP, 30,0 %) та > 7 днів (G-CHOP, 13,1 %; R-CHOP, 9,1 %) (Таблиця 5). Нове (незаплановане) лікування лімфоми отримували 103 пацієнти (G-CHOP, 49; R-CHOP, 54) перед прогресуванням захворювання, включаючи променеви терапію для 23 пацієнтів із ознаками залишкового захворювання після завершення досліджуваного лікування (G-CHOP, 9; R-CHOP, 14), та 227 пацієнтів (G-CHOP, 102; R-CHOP, 125) після прогресування захворювання.

Ефективність

На 30 квітня 2016 р., та через спостереження в середньому 29 місяців, кількість оцінених дослідником PFS явищ в ІТТ популяції була подібною для G-CHOP (201, 28,5 %) та R-CHOP (215, 30,2 %), із стратифікованим CP, 0,92 (95 % ДІ, 0,76-1,11; P =,3868). Оцінювані 3-х річні PFS коефіцієнти становили 69,6 % та 66,9 %, відповідно (Фіг. 2A; Таблиця 2).

Вторинні кінцеві точки узгоджувалися із первинними контрольними точками, без клінічно значимих відмінностей між лікованими групами для IRC-оцінюваного PFS або будь-якого іншого часу до розвитку подій кінцевої точки (OS, EFS, DFS, та TTNT) (Фіг. 2B, Таблиця 2, Фіг. 13).

Підгрупи та попередні аналізи

Ефективність G-CHOP відносно R-CHOP (нестратифіковане CP для оціненого дослідником PFS) в цілому була подібною для вибраних підгруп пацієнтів, включаючи пацієнтів, які отримували 6 відносно 8 циклів CHOP (Фіг. 3).

Аналіз Каплан-Мейер для PFS у пацієнтів із різними СОО підтипами (незалежно від лікування в рамках дослідження) свідчив про те, що GCB підтип пов'язаний із кращим клінічним результатом, ніж ABC або некласифіковані підтипи. CP для PFS становили 1,71 (95 % ДІ, 1,31-2,23) для ABC–GCB порівняння, 1,57 (95 % ДІ, 1,14-2,15) для некласифіковані–GCB порівняння та 1,08 (95 % ДІ 0,77-1,52) для ABC–некласифіковані порівняння (Фіг. 2C); 3-х річні коефіцієнти PFS становили 75 %, 59 %, та 63 % для GCB, ABC та некласифікованих підтипів, відповідно. В пошуковому аналізі оціненої дослідником PFS, стратифіковане CP для G-CHOP відносно R-CHOP для 933 пацієнтів із доступних СОО даних становило 0,82 (95 % ДІ, 0,64-1,04), що свідчить про потенційну помилку вибору відн. ІТТ популяції. Стратифіковане CP для 540 пацієнтів у GCB СОО підгрупі становило 0,72 (95 % ДІ, 0,51-1,03; 3-х річне PFS, 79 % [G-CHOP] відн. 71 % [R-CHOP]); не спостерігалось клінічно значимих відмінностей для PFS між лікованими групами для 243 пацієнтів із ABC підтипом (CP, 0,86 [95 % ДІ, 0,57-1,29]; 3-х річне PFS, 61 % відн. 58 %)) або 150 пацієнтів із некласифікованим СОО підтипом (CP, 1,02 [95 % ДІ, 0,60-1,75]; 3-х річне PFS, 62 % відн. 64 %]; Фіг. 14).

Безпека

В популяції для оцінки безпеки, пропорція пацієнтів, у яких спостерігається принаймні одне АЕ будь-якого ступеню була подібною у G-CHOP та R-CHOP групах (97,0 % [683/704] та 93,5 % [657/703], відповідно) (Таблиця 3). Найбільш поширеними АЕ в обох групах були нейтропенія (G-CHOP, 48,3 %; R-CHOP, 40,7 %), реакції, пов'язані з інфузією (IRR; 36,1 %; 23,5 %), нудота (29,4 %; 28,3 %), та закреп (23,4 %; 24,5 %) (Таблиця 6). Ступінь 3–5 АЕ були більш поширеними в G-CHOP групі (73,7 % [519/704] відн. 64,7 % [455/703]), як були SAE (42,6 % [300/704] відн. 37,6 % [264/703]). Найбільш поширеними АЕ 3–5 ступеню в обох групах були нейтропенія (G-CHOP, 46,2 %; R-CHOP, 38,1 %), інфекції (19,2 %; 15,5 %), фібрильна нейтропенія (17,5 %; 15,2 %), та лейкопенія (13,6 %; 10,1 %) (Таблиця 3).

Аналіз АЕ, які представляють особливий інтерес, показав, що інфекції, нейтропенія, IRR, кардіологічні явища, тромбоцитопенія та геморагічні прояви будь-якого ступеню (а також АЕ 3–5 ступеню та SAE) були більш поширеними із G-CHOP, ніж R-CHOP (Таблиця 7). Слід зазначити, що швидкості реактивації гепатиту В були вищими із G-CHOP (2,3 %), ніж R-CHOP (0,9 %),

більшість явищ були 1 або 2 ступеню, та явища 3 або 4 ступеню були добре збалансовані між дома групами (G-CHOP 0,3 % відн. R-CHOP 0,3 %). Всі інші АЕ в групах, що представляють особливий інтерес, а саме опортуністичні інфекції, синдром лізису пухлини, вторинні злоякісні новоутворення та перфорація шлунково-кишкового тракту (виключаючи абсцеси) проявляються

із подібною частотою у двох групах (Таблиця 7).

Подібна пропорція пацієнтів в кожній групі отримала принаймні одну дозу G-CSF під час дослідження (G-CHOP, 611 [86,5 %]; R-CHOP, 586 [82,3 %]).

Вища пропорція пацієнтів в G-CHOP групі в порівнянні із R-CHOP групою припинила ≥ 1

компонент досліджуваного лікування внаслідок АЕ (84 [11,9 %] відн. 60 [8,5 %]). Фатальні АЕ

спостерігалися у 71 пацієнтів (G-CHOP, 5,8 % [41/704]; R-CHOP, 4,3 % [30/703]) та докладно

описані в Таблиці 3.

Обговорення В даному дослідженні пацієнтів із раніше нелікованою DLBCL, G-CHOP та R-CHOP проявили подібну ефективність для всього часу до розвитку подій кінцевих точок, та не була досягнута первинна кінцева точка дослідження оцінених дослідником PFS. Відсутність переваги G-CHOP відносно R-CHOP в популяції із агресивною NHL протирічить результатам дослідження оцінки G при CLL та FL. В дослідженні GALLIUM, індукція на основі G та підтримуюча терапія суттєво поліпшує оцінені дослідником PFS відносно терапії на основі R у 1202 раніше нелікованих FL пацієнтів (Marcus loc. cit.). G також пролонгує PFS відносно R у нелікованих CLL пацієнтів (n=663), якщо обидва підходи комбінують із хлорамбуцилом в фазі 3 CLL11 дослідження (Goede loc. cit.).

Враховуючи переваги терапії на основі G для FL та CLL пацієнтів, відсутність переваги G-CHOP у DLBCL пацієнтів в GOYA була неочікуваною. Це просто може бути зумовлено відмінностями біологічних та клінічних профілів між лімфопрліферативними захворюваннями, які повільно розвиваються, такими як FL та CLL, та агресивними захворюваннями, такими як DLBCL (Lenz, N. Engl. J. Med. 362, 2010, 1417-1429; Lim loc. cit.). Дійсно, обінутузумаб може бути більш сприятливим при лімфомах, які є менш агресивними, або, подібно до FL, мають походження із зародкового центру. Ймовірно, підтримує ці відомості тенденція до переваги G-CHOP відносно R-CHOP в GOYA для GCB підтипу, який має походження із зародкового центру, та відомо, що є більш подібним до FL у порівнянні із іншими DLBCL підтипами (Morin, Nature 476 2011, 298-303; Shaffer, Nat. Rev. Immunol. 2, 2002, 920-932), із більш сприятливим прогнозом та іншим імунним мікрооточенням, ніж ABC та некласифіковані підтипи. Різний спосіб дії обінутузумабу та ритуксимабу також може відігравати роль у різній перевазі цих агентів при FL та DLBCL, однак, ще нема даних, які підтверджують таке припущення. Дані аналіз біомаркерів GOYA, які проводяться, в майбутньому забезпечать розуміння між цими відмінностями. Слід зазначити, що призупинення дозування та стрибки доз в циклі 1 більш часто зустрічаються із G-CHOP, що відображає вищий ступінь АЕ (IRR та цитопенія); що може сприяти відсутності переваг ефективності в порівнянні із R-CHOP.

Після драматичного поліпшення клінічних результатів після першого додавання ритуксимабу до CHOP (Coiffier loc. cit.), не було отриманого суттєвих переваг в лікуванні для DLBCL пацієнтів. Рандомізовані дослідження не змогли продемонструвати перевагу скорочених інтервалів між циклами (Cunningham, Lancet 381, 2013, 1817-1826), або від консолідації хіміотерапії в високих дозах та трансплантації аутологічних стовбурових клітин (Stiff, N. Engl. J. Med. 369, 2013, 1681-1690; Schmitz, Lancet Oncol 13, 2012, 1250-1259); додавання бортезомібу до R-CHOP також не змогло забезпечити поліпшення клінічних результатів в рандомізованому дослідженні пацієнтів із не-GCB DLBCL (Leonard, Blood 126, 2015, 811), та підтримання за допомогою леналідоміду не поліпшило OS (Thieblemont, Blood 128, 2016, 471). Враховуючи агресивну поведінку DLBCL, заміна ритуксимабу на нове антитіло до CD20 із іншим способом дії може не бути достатнім для подолання стійкості до хіміотерапії. Комбінації антитіла кон'югованого із лікарським засобом, або анти-BCL2 агентів із R-CHOP може виглядати більш перспективним, як показано в попередніх результатах недавніх досліджень в фазі 1/2 (Zelenetz, Blood 128, 2016, 3032; Tilly, Blood 128, 2016, 1853).

При визначенні COO статусу із використанням профілювання експресії гена були ідентифіковані біологічно різні підтипи DLBCL, включаючи підтипи за походженням GCB та ABC (Lenz, Proc Natl Acad Sci USA 105, 2008, 13520-13525; Scott, J. Clin. Oncol. 33, 2015, 2848-2856). Ці молекулярні підтипи мають важливий вплив на онкогенез та результат лікування, що відображено шляхом їх включення в поточну класифікацію BOO3 для DLBCL (Swerdlow, Blood 127, 2016, 2375-2390). Пацієнти із GCB підтипом типово мають більш сприятливі клінічні результати, тоді як ABC підтип пов'язаний із гіршими результатами лікуваннями після хіміотерапії або імунохіміотерапії (включаючи R-CHOP), та можуть представляти собою підгрупу пацієнтів із високим ризиком, що становлять незадоволену медичну потребу (як показано в

ретроспективних дослідженнях) (Lenz, Proc. Natl. Acad. Sci. USA loc. cit.; Scott 2015 loc. cit.). GOYA є найбільшим перспективним дослідженням для оцінки впливу СОО на клінічні результати. Порівняння PFS за допомогою СОО підтипів узгоджується і з кращими клінічними результатами для GCB DLBCL, із CP, що вказує на 70 % підвищення ризику прогресування захворювання у пацієнтів із ABC відносно GCB підтипу. Клінічний результат для неklasифікованої підгрупи був подібним до такого у ABC підгрупі, що є протилежним до описаного в деяких попередніх дослідженнях (Scott 2015 loc. cit.). Цікавим є той факт, що СОО класифікація не корелює із ORR та/або попередньою оцінкою PFS у інших проспективно визначених дослідженнях, таких як REMoDL-B (Davies, Blood 126, 2015, 812) або PYRAMID (Leonard loc. cit.), хоча в цих дослідженнях використовували різні СОО аналізи. Специфічні лікування, спрямовані на СОО підтипи DLBCL, можуть забезпечувати альтернативну стратегію для поліпшених клінічних результатів. Селективне націлювання рецептора В-клітини або NF-κB шляхів, наприклад, може забезпечити перевагу для DLBCL підтипів (ABC або не-GCB), про що свідчать результати фази 2 досліджень, в яких оцінювали леналідомід або ібрутиніб із R-CHOP (Nowakowski, J Clin Oncol 33, 2015, 251-257; Vitolo, Lancet Oncol. 152014, 730-737; Younes, Lancet Oncol 15, 2014, 1019-1026). Ці стратегії в даний час оцінюють в фазі 3 рандомізованих досліджень.

Профіль та природа АЕ, описаних серед G-CHOP-лікованих пацієнтів, були, як і очікувалось, без нових сигналів безпеки. Частота АЕ 3–5 ступеня, SAE та припинення лікування внаслідок АЕ було незначно вище в G-CHOP групі, ніж у R-CHOP групі, що узгоджується із описаними результатами в інших дослідженнях. Ці невідповідності можуть бути обумовлені різними структурними та біологічними властивостями G та R.

На завершення слід зазначити, що дане дослідження продемонструвало, що G-CHOP не поліпшує PFS у великій популяції пацієнтів із раніше нелікованою DLBCL в порівнянні із R-CHOP, що залишає стандартне лікування для цих пацієнтів. Не було ідентифіковано нових сигналів із безпеки.

Приклад 3 – Переваги Обінутузумабу відносно Ритуксимабу в нових підгрупах DLBCL (прогностичний визначений за допомогою біомаркера; опис та результати попередніх аналізів GOYA фази 3 клінічного дослідження)

Приклад 3.1-Gazyva™-CHOP є кращими в порівнянні із Ритуксимаб-CHOP у визначених за допомогою біомаркера підгрупи DLBCL – результати із Roche GOYA (BO21005) фази 3 клінічного дослідження

Короткий виклад

Ритуксимаб (R) плюс CHOP хіміотерапія є стандартним лікуванням для раніше нелікованої дифузної великоклітинної В-клітинної лімфоми (DLBCL). Обінутузумаб (G) представляє собою моноклональне антитіло типу II до CD20 із модифікованою схемою глікозилювання. GOYA представляє собою фазу 3 рандомізованого дослідження порівняння G-CHOP та R-CHOP у раніше нелікованих DLBCL на прогресуючій стадії.

GOYA дослідження у 1L DLBCL не досягає його первинної контрольної точки: стратифіковане CP, PFS: 0,92 (95 % ДІ 0,76-1,12), але дослідження GALLIUM демонструє переваги Gazyva відносно Ритуксимаб для 1L FL (CP 0,66, 95 % ДІ 0,51-0,85; в даний момент готується до подання).

У попередніх аналізах GOYA, переваги Gazyva™ відносно Ритуксимабу спостерігали у підгрупі GCB DLBCL пацієнтів та/або також у пацієнтів з мутаціями в CD58 та/або низькою експресією CD58. Це було вперше, коли була ідентифікована перевага Gazyva у визначеній за допомогою біомаркера підгрупі DLBCL.

Результати свідчать про те, що (а) підгрупа (и) GCB DLBCL пацієнтів, яка (і) відповідає (ють) на, Gazyva може (уть) бути ідентифікована (і) різними шляхами, наприклад, шляхом визначення BCL2 транслокації та понадекспресії BCL2 білка, і також шляхом визначення профілювання експресії гена, наприклад, аналізу Nanostring Cell of Origin (COO), використовуючи нові граничні значення для оцінки лінійного передбачення, LPS.

Методи

Класифікація клітин-попередників (COO) на підгрупи В-клітина зародкового центру (GCB), активована В-клітина (ABC), та неklasифіковані, ґрунтується на профілюванні експресії гена, використовуючи NanoString Research Use Only Lymphoma Subtyping Test (NanoString Technologies, Inc., Seattle, WA, USA).

Оцінка лінійного передбачення (LPS) представляє собою безперервну змінну (середньозважене значення для генної експресія генів в аналізі Nanostring Lymphoma Subtyping) із інтервалом в GOYA від -1138 до 4504. Зазвичай LPS використовують для класифікації пацієнтів на СОО підгрупи GCB, ABC, неklasифіковані. Алгоритм СОО за замовчуванням

використовує байєсовський підхід із GCB /ABC класифікацією на основі ≥ 90 % граничного значення на ймовірність наявності GCB або ABC (некласифіковані працюють як буфер).

LPS вперше аналізували безпосередньо для клінічного результату. LPS розглядали як безперервну змінну для оцінки ефекту лікування (ефективність G-CHOP відн. R-CHP) у пошуковим, неспецифічних аналізах в GOYA дослідженні.

BCL-2 транслокації оцінювали із використанням Bc1-2 Dual Color Break Apart (Vysis, Abbott Molecular) і також за допомогою секвенування наступного покоління Foundation Medicine, FoundationOne Heme. Експресію BCL-2 білка оцінювали с дослідницьким використанням Ventana аналізу IHC (клон BCL2 антитіла, 124). Оцінювали експресію повного транскриптому гена в GOYA дослідженні, використовуючи TruSeq® RNA Access Library Prep Kit. CD58 мутації ідентифікували із використанням панелі генів FoundationOne heme.

Результати

Були ідентифіковані за допомогою біомаркера підгрупи DLBCL, які мають переваги від застосування G (G-CHOP) відносно R (R-CHOP):

- BCL2 транслоковані пацієнти (див. фігуру 4)
- пацієнти, позитивні за експресією BCL2 білка (див. фігуру 5)
- BCL2 транслоковані пацієнти, які позитивні за експресією BCL2 білка (див. фігуру 6)
- Підгрупа GCB DLBCL пацієнтів. Вони можуть бути ідентифіковані як:

Нова підгрупа класифікації GCB пацієнтів за новими граничними значеннями оцінки лінійного передбачення в нову підгрупу "сильні-GCB" (пацієнти із LPS < граничного значення) (див. фігуру 7)

- або GCB пацієнти із високою експресією BCL2 гена
- або GCB пацієнти, які позитивні за експресією BCL2 білка
- або GCB пацієнти із BCL2 транслокацією

або GCB пацієнти із BCL2 транслокацією, які позитивні за експресією BCL2 білка (див. фігуру 8)

- В цілому, CD58 мутувані пацієнти, та/або пацієнти з низькою експресією CD58 (див. фігуру 9)

Приклад 3.2 - Переваги Обінутузумабу відносно Ритуксимабу в новій молекулярній FL-подібній підгрупі DLBCL – Результати із фази 3 GOYA дослідження

Методи

GOYA представляє собою відкрите, рандомізоване дослідження в фазі 3, в якому порівнюють 1L G-CHOP із R-CHOP в 1418 DLBCL пацієнтів (пац). Тестування біомаркерів здійснюють на фіксованій у формаліні, залитій у парафін тканині пухлини, зібраній перед лікуванням, та тестованій ретроспективно у центральних лабораторіях. COO оцінювали із використанням NanoString Research Use Only LST (NanoString Technologies Inc., Seattle, WA, USA) у 933 пацієнтів. Додаткові аналізи біомаркерів здійснювали для молекулярної характеристики, включаючи ДНК-націлене секвенування 467 генів, використовуючи панель FoundationOne® Heme (FOH) (n=499 пац) та експресію повного транскриптому гена оцінювали із використанням TruSeq® PHK секвенування у 552 пац. Vysis LSI Dual Color Break Apart FISH зонди застосовували для ідентифікації BCL2 транслокації (n=644 пац; FISH граничне значення, 50 %), та дослідницьке застосовування Ventana аналізу IHC використовували для оцінки експресії BCL2 (клон BCL2 антитіла, 124); BCL2+IHC визначали як помірне / сильне фарбування у ≥ 50 % пухлинних клітин. Багатофакторну регресію Кокса та еластичну часткову регресію зі штрафом (альфа=0,5) використовували для оцінки ефектів лікування із біомаркерами. Додатково, здійснювали бутстреп моделювання для ідентифікації оптимального LPS (NanoString LST) для відображення коректності спостережуваних ефектів лікування в GOYA та генералізованість ефектів лікування в незалежних досліджуваних популяціях. Здійснювали корегування множинної перевірки шляхом оцінки FDR, використовуючи процедуру Benjamini-Hochberg (достовірність, < 5 % FDR). Здійснювали аналіз збагаченого шляху, використовуючи гіпергеометричний тест; за допомогою представленості груп генів, використовуючи набори генів, визначених за допомогою MSigDB Hallmarks та набір генів маркера лікованої FL соматичної мутації на основі недавно опублікованого огляду. Всі пацієнти погоджувалися із аналізами біомаркерів.

Результати

При оцінюванні LPS як безперервної змінної було ідентифіковано підгрупу GCB пацієнтів, які мають переваги від G-CHOP. Особливо, сильна експресія профілю експресії генів зародкового центру (за допомогою LPS) була пов'язана із перевагою клінічних результатів від лікування із застосуванням G-CHOP відносно R-CHOP серед пацієнтів в GOYA. В бутстреп моделюваннях було ідентифіковано оптимальне граничне значення LPS (≤ 725) для передбачення G-CHOP

переваги як 25 % (233/933) GOYA пацієнтів із найнижчими оцінками LPS. Ці пацієнти позначаються як переважні "сильні-GCB" пацієнти, та включають 43 % (233/540) оцінюваних GCB пацієнтів в GOYA. Сильні-GCB пацієнтів, яких піддають лікуванню із використанням G-CHOP, досягають значно кращих клінічних результатів з урахуванням параметрів оціненого дослідником без прогресування захворювання (CP=0,33, $p=0,0007$), безподійне (CP=0,47, $p=0,003$), та загальне виживання (CP=0,41, $p=0,019$) в порівнянні із тими, які отримували лікування із використанням R-CHOP (пор. Фігури 10, 12; Таблиця 4). В мультиваріантних аналізах, спостережувані переваги були незалежними від початкових демографічних характеристик та характеристик захворювання. Безпека була подібною із будь-якою схемою лікування. Дані FISH, TruSeq RNA, та BCL2 IHC/FISH GOYA застосовували для молекулярної характеристики сильних-GCB пацієнтів. В аналізах наборів генів на основі FISH даних, при порівнянні із іншими GCB пацієнтами, сильні-GCB пацієнти були значно більше збагачені на мутації, які є характерними для FL пацієнтів ("слабкі-GCB": FDR, $3.54e-9$). Особливо, BCL2 транслокації та мутації в деяких m7-FLIP1 генах були набагато більше збагачені у сильних-GCB пацієнтів відносно інших DLBCL підгруп (Фігура 11). Відсутні докази наявності трансформованої невираженої NHL в сильній-GCB підгрупі при аналізі центральної патології.

Висновки

В результаті аналізу даних із GOYA дослідження, була ідентифікована нова клінічна та молекулярно відмінна підгрупа GCB DLBCL, яка включає принаймні приблизно 25 % всіх DLBCL пацієнтів, що позначається як "сильні-GCB". Ця відмінна підгрупа ідентифікується за допомогою профілювання експресії гена (використовуючи, наприклад, LPS граничне значення ≤ 725 в аналізі Nanostring LST) та характеризується мутаціями, які також звичайно ідентифіковані у FL пацієнтів (пор. Morin loc. cit.). Лікування за допомогою G-CHOP надає значні клінічні переваги в порівнянні із R-CHOP для цієї нової підгрупи 1L DLBCL пацієнтів.

Даний винахід стосується наступних нуклеотидів та амінокислотних послідовностей:
SEQ ID NO: 1:

Амінокислотна послідовність варіабельної ділянки важкого ланцюга обінутузумабу.
Химерний поліпептид миші-людини.

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser
Trp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
```

SEQ ID NO: 2:

Амінокислотна послідовність KV1 варіабельної ділянки легкого ланцюга обінутузумабу
Химерний поліпептид миші-людини

```
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
Arg Thr Val
```

SEQ ID NO: 3:

Послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує варіабельну ділянку важкого ланцюга

обінутузумабу
Химерна ДНК миші-людини

```

caggtgcaat tgggtgcagtc tggcgctgaa gttaagaagc ctgggagttc agtgaaggtc      60
tcttgcaagg ctccgggata cgccttcagc tattcttggg tcaattgggt ggggcaggcg      120
cctggacaag ggctcagagt gatgggacgg atctttcccg gcgatgggga tactgactac      180
aatgggaaat tcaaggggcag agtcacaatt accgcggaca aatccactag cacagcctat      240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcctgtg attactgtgc aagaaatgtc      300
tttgatgggt actggcttgt ttactggggc cagggaaccc tggtcacogt ctctcca      357

```

5

SEQ ID NO: 4:

Послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує KV1 варіабельну ділянку легкого ланцюга обінутузумабу
Химерна ДНК миші-людини.

10

```

gatatcgtga tgacccagac tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gcccgccagc      60
attagctgca ggtctagcaa gaggctcttg cacagcaatg gcatcactta ttgtattgg      120
tacctgcaaa agccagggca gtctccacag ctcttgattt atcaaatgtc caaccttgtc      180
tctggcgctc ctgacgggtc ctccggatcc gggtcaggca ctgatttccac actgaaaato      240
agcagggtgg aggtcagga tgttggagtc tattactggc ctcaaatct agaacttcc      300
tacaaccttc ggggagggac caaggaggag atcaaacgta cgggtg      345

```

SEQ ID NO: 5:

Амінокислотна послідовність важкого ланцюга обінутузумабу. Варіабельна ділянка включає положення амінокислот 1 - 119.

15

```

QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYAFS YSWINWVRQA PGQGLEWMGR 50
IFPGDGDYDY NGKFKGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARNV 100
FDGYWLVIWG QGTLVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD 150
YFFEPVTVSW NSGALTSGVH TFPVLQSSG LYSLSVTVTV PSSSLGTQTY 200
ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPELLGGP SVFLFPPKPK 250
DTLMISRTPE VTCVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS 300
TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV 350
YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL 400
DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVN HEALHNHYTQ KSLSLSPCK 449

```

SEQ ID NO: 6:

20 Амінокислотна послідовність KV1 легкого ланцюга обінутузумабу. Варіабельна ділянка включає положення амінокислот 1 - 115.

```

DIVMTQTPLS LPVTFGEFAS ISCRSSKSLI HNGITYLYW YLQKPGQSPQ 50'
LLIYQMSNLV SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDGVV YYCAQNLPLP 100'
YTFGGGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVCL LNNFYPREAK 150'
VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDYSTSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE 200'
VTHQGLSPFV TKSFNRGEC      219'

```

25

SEQ ID NO: 7:

Послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує варіабельну ділянку важкого ланцюга обінутузумабу (B-HH6).

CAGGTGCAATTGGTGCAGTCTGGCGCTGAAGTTAA
 GAAGCCTGGGAGTTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGG
 CTCCGGGATACGCCTTCAGCTATTCTTGGATCAATT
 GGGTGCGGCAGGCGCCTGGACAAGGGCTCGAGTG
 GATGGGACGGATCTTTCCCGGCGATGGGGATACTG
 ACTACAATGGGAATTCAGGGGCAGAGTCACAATT
 ACCGCCGACAAATCCACTAGCACAGCCTATATGGA
 GCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGT
 ATTACTGTGCAAGAAATGTCTTTGATGGTTACTGGC
 TTGTTTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCT
 CCTCA

SEQ ID NO: 8:

- 5 Послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує KV1 варіабельну ділянку легкого ланцюга обінутузимабу.

GATATCGTGATGACCCAGACTCCACTCTCCCTGCCC
 GTCACCCCTGGAGAGCCCGCCAGCATTAGCTGCAG
 GTCTAGCAAGAGCCTCTTGACACAGCAATGGCATCA
 CTTATTTGTATTGGTACCTGCAAAAGCCAGGGCAG
 TCTCCACAGCTCCTGATTTATCAAATGTCCAACCTT
 GTCTCTGGCGTCCCTGACCGGTCTCCGGATCCGGG
 TCAGGCACTGATTTACACTGAAAATCAGCAGGGT
 GGAGGCTGAGGATGTTGGAGTTTATTACTGCGCTC
 AGAATCTAGAACTTCCTTACACCTTCGGCGGAGGG
 ACCAAGGTGGAGATCAAACGTACGGTG

SEQ ID NO: 9:

- 10 Амінокислота послідовність важкого ланцюга ритуксимабу.
 Химерний важкий ланцюг ритуксимабу

QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSY
 NQKFSGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTFTVVS
 AASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
 SGLYSLSSEVTVFSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKAEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG
 GP3VFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVVLVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
 NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD
 ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
 WQQGNVVFSCSVMHREALHNNHTQKSLSLSPGE

- 15 SEQ ID NO: 10:

Амінокислота послідовність легкого ланцюга ритуксимабу.
 Химерний легкий ланцюг ритуксимабу

QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVFVR
 FSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQTSTNPPTFGGGTNLEIKRTVAAPSVPFIFFPS
 DEQLKSGTASVVCLENNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSLSTLT
 SKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:11:

Приклад нуклеотидної послідовності, яка кодує CD58 Homo sapiens (людини) (варіант 1).

```

1  gggccgcccg ctgccagccc agggcggggg gyagccctac ttctggccga ccgcgtaggc
61  ggtgcttgaa cttagggctg cttgtggctg ggcactcgcg cagaggccgg ccgcagcagc
121 catggttgct gggagcgacg cggggcgggg cctgggggtc ctcagcgtgg tctgcctgct
181 gcacgcgttt ggttccatca gctgttttcc ccaacaaata catggtgttg tgtatgggaa
241 tgtaactttc catgtaccaa gcaatgtgcc tttaaaagag gtccatagga aaaaacaaaa
301 ggataaagtt gcagaactgg aaaattctga attcagagct tctcactctt ttaaaaaatg
361 ggttttattta gacactgtgt caggttagct cactatctac aacttaacat catcagatga
421 agatgagtat gaaatggaat cgcacaaatat tactgatacc atgaagtctt ttctttatgt
481 gcttgagttt cttccatctc ccacactaac ttgtgcattg actaatggaa gcattgaagt
541 ccaatgcctg ataccagagc attacaacag ccacgcagga cttataatgt actcatggga
601 ttgtcctatg gagcaatgta aacgtaactc aaccagtata tattttaaga tggaaaaatg
661 ttttccacaa aaaatacagt gtactcttag caatccatta tttaatacaa catcatcaat
721 cattttgaca aactgtatcc caagcagcgg tcattcaaga caccagatat cacttataac
781 cataccatta gcagtaatta caacatgtat tggctgtat atgaatggta ttctgaaatg
841 tgacagaaaa ccagacagaa ccaactcaa ttgatttgta acagaagatg aagacacacg
901 cataactaaa ttattttaa aaactaaaag ccacttgatt tctcatttga gtattacaat
961 ttttgaacaa ctgttggaat tgtaacttga agcagctgct ttaagaagaa ataccacta
1021 acaagaacaa agcattagtt ttggctgtca tcaacttatt atatgaactg gtgcttgctt
1081 ttttctcag taaattgttt ttactgatga tgtagatact tttgtaata aatgtaata
1141 tgtacacaag tga

```

5

SEQ ID NO:12:

Приклад амінокислотної послідовності CD58 Homo sapiens (людини) (ізоформа 1).

```

1  mvagsdagra lgvlsvvcil hcfgfiscfs qqliygvvygn vtfhvpsnvp lkevlwkkqk
61  dkvaelsen frafsfknr vyltdvagsl tiynltasde deyemespni tdtmkfflyv
121 lesipsptlt caltnsaiev qcmipehyns hrglimyswd cpmeqckrns tslyfkmend
181 lpgkigctls nplfnttssi ilttcipesg hsrhryalip iplavittci vlymngilkc
241 drkpdrtnsn

```

10

SEQ ID NO:13:

Приклад нуклеотидної послідовності, яка кодує BCL2 Homo sapiens (людини) (варіант альфа).

15

1 tttctgtgaa gcagaagtct gggastcgat ctggaaatcc tctaatttt tactccctct
 61 ccccgcgact cctgattcat tgggaagttt caaatcagct ataactggag agtgcgtgaag
 121 attgatggga tggctgcctt atgcatttgt tttggtttta caaaaaggaa acttgacaga
 181 ggatcatgct gtacttaaaa aatacaacat cacagaggaa gtagactgat attaacaata
 241 cttactaata ataacgtgac tcatgaataa aagatccgaa aggaattgga ataaaaattt
 301 cctgcctctc atgccaaggg ggaaacacca gaatcaagtg ttccgcgtga ttgaagacac
 361 cccctcgtcc aagaatgcaa agcacatcca ataaaatagc tggattataa ctctctctct
 421 ttctctgggg gcctgsgggg gggagctggg gcgagaggtg ccgttggccc ccgttgcctt
 481 tctcttggga aggatggcgc acgctgggag aacagggtac gataaccggg agatagtgat
 541 gaagtacatc cattataagc tgtgcagag gggctaagag tgggatggg gagatgtggg
 601 cgcgcggccc ccggggggcc ccccgccacc gggcatcttc tctcccagc ccggggcacc
 661 gccccatcca gcgcctccc gggaacgggt cgcagggacc tgcgcgtgc agaaccggc
 721 tgcgccgggc gcgcgcggg gcctgcgct cagcccggtg ccacctgtgg tccacctgac
 781 cctccgacag gcgcgggacg actctctccg ccgctaacgc cgggaacttg ccgagatgtc
 841 cagccagctg caccgacgc ccttcacgc gcggggacgc tttgccacgg tgggtgggga
 901 gctcttcagg gacgggggtg actgggggag gattgtggcc tttttttagt tgggtggggt
 961 catgtgtgtg gagagcgtca accggggagat gtgcgccctg gtggacaaca tgcacctgtg
 1021 gatgactgag taacctgaac ggcaacctga cacctggatc caggataaac gaggttggga
 1081 tgcctttgtg gaactgtacg gcccacgac ggggcctctg ttcgatttct cctggcctgc
 1141 tctgaagact ctgctcagtt tggccctggg gggagcctgc atcacccctg gtgcctatct
 1201 gggccacaag tgaagtcaac atgcctgccc caaacaataa tgcaaaaggc tcaactaaagc
 1261 agtagaataa atatgcattg tcagtgatgt accatgaaac aaagctgcag gctgtttaag
 1321 aaaaaataac acacatataa acatcacaca cacagacaga cacacacaca cacaacaaatt
 1381 aacagtcttc aggcacaaacg tcgaatcagc tatttactgc caaagggaat tatcatttat
 1441 tttttacatt attaaagaaa aaagatttat ttatttaaga cagtcccatc aaaaactcctg
 1501 tttttggaaa tccgaccact aattgcacag caccgcttcg tgtggctcca cctggatgtt
 1561 ctgtgcctgt aaacatagat tgcctttcca tgttgttggc cggatcacca tctgaagagc
 1621 agacggatgg aaaaaggacc tgatcattgg ggaagctgga tctctggctg ctggagggctg
 1681 gggagaagggt gttcattcac ttgcatttct ttgccttggg ggcctgtgata ttaacagagg
 1741 gagggttcct gtggggggga gtccatgctt ccttggcctg aagaagagac tctttgcata
 1801 tgactcacat gatgcatacc tgggtgggag aaaagagttg ggaacttcag atggacctag
 1861 taaccactga gatttcacg ccgaaggaca gcgatgggaa aaatgcctt aaatcatagg
 1921 aaagtatttt ttttaagctac caattgtgac gagaaaagca ttttagcaat ttatacaata
 1981 tcatccagta cottaagccc tgattgtgta tattcatata ttttgatac gaacccccca
 2041 actcccaata ctggctctgt ctgagtaaga aacagaatcc tctggaactt gaggaagtga
 2101 acatttcggg gacttcgcga tcagggaaggc tagagttaac cagagcatca ggcgcacaca
 2161 agtgcctgct tttaggagac cgaagtccgc agaacctgac tgtgtccag cttggaggcc

2221 tgggtccctgga actgagccgg ggcctcactt ggcctcctcc agggatgato aacaggggcag
 2231 tgtgggtctcc gaatgtctgg aagctgatgg agctcagaat tccactgtca agaaagagca
 2341 gtagaggggt gtggctgggc ctgtcaccct ggggcctcc aggtaggccc gttttcaagt
 2401 ggagcatygg agccacgacn ctctttaaga catgtatnac tgttagagga aggaacagag
 2461 gccctgggcn ctctctatca gaaggacatg gtgaaggctg ggaacgtgag gagaggcaat
 2521 ggccacgggc catttttggc gtgacacatg gcacgttggc tgtgtggcct tggcccacct
 2531 gtgagtttaa agcaaggctt taaatgactt tggagagggt cccaaatcct aaaagaagca
 2641 ttgaagtggg gtgtcatgga ttaattgacn cctgtctatg gaattacatg taaaacatta
 2701 tcttgtcact gtagtctggc tttatttgaa aacctgacaa aaaaaaggt ccagggtgtg
 2761 aatatggggg ctatctgtac atcctggggn attaaaaaaa aatcnaatgg tggggaacta
 2821 taaagaagta acaaaagaag tgacatcttc agcaaataaa ctaggaaatt tttttttctt
 2831 ccagttttag atcagccttg aaacattgat ggaataactc tgtggcatta ttgcattata
 2941 taccatttat ctgtattaac tttggaatgt actctgttca atgtttaatg ctgtggttga
 3001 tatttcgaaa gctgctttta aaaaatacat gcatctcagc gtttttttgt ttttaattgt
 3061 atttagctat ggcctataca ctatttctga gcaagggtga tctgtttctg ttgagattt
 3121 ttatctcttg attcttcaaa agcattctga gaaggtaga taagccctga gtctcagcta
 3131 cctaagaaaa accctggatgt cactggccac tgaggagctt tgtttcaacc aagtcactgt
 3241 catttccacg tcaacagaat tgtttattgt gacagtata tctgttctcc ctctgacctt
 3301 gttttcttga ggtttctctg tccctgggca attccgcatt taattcattg tattcaggat
 3361 tacatgcctg tttggttaaa cccatgagat tcattcagtt aaaaatccag atggcaaatg
 3421 accagcagat tcaaatctat ggtgggttga ccttcagaga gttgctttac gtggcctgtt
 3431 tcaacacaga cccacccaga ggcctcctgc cctcctctcg cgggggcttt ctcatggctg
 3541 tccctccaggg tctccttgaa atgcagtggt gcttacgctc caccagaaa gcaggaaacc
 3601 tgtggtatga agccagacct ccccgggggg cctcaggga cagaatgato agaccttga
 3661 atgattctaa tttttaagca aaatattatt ttatgaaggt ttacattgt caaagttagt
 3721 aatatggaa atccaatcct gtgctgctat cctgccaaa taatttcaat ggagtcagtt
 3731 tgcagtatgc tccacgtggt aagatcctcc aagctgcttt agaagtaaca atgaagaacg
 3841 tggacgtttt taatataaag cctgttttgt ctctgttgt tgttcaaacg ggattccag
 3901 agtatttgaa aaatgtatat atattaagag gtccaggggg ctaattgctg gctggctgcc
 3961 ttttgcctgt ggggttttgt aactggtttt aataacagta aatgtgcca gctcttggc
 4021 cccagaactg tacagtattg tggctgcact tgccttaaga gtagttagat ttgcatttct
 4031 ctattctgtc aaaaatgctt agaagcaatg aatgtatata aaagcctcaa ctagtcaattt
 4141 tttctctctc ttcttttttt taattatatt taattatttt gcagttgggc aacagagaa
 4201 catccctatt ttgtattgaa gagggattca catctgcac ttaactgctc ttcatgaaatg
 4261 aaaaaaacgt cctctgtatg taactcctct tacactggcn agggtcagag ttaaatagag
 4321 tatatgcact ttccaaattg gggcacaagg ctctaaaaaa agcccaaaa ggagaaagaa
 4331 atctgagaac ctctcgggc ctccagtcn ctgctgcac aaatactcc caagagaggc
 4441 cagaatgaca gctgacaggg totatggcca tgggtctgtc tccgaagatt tggcaggggc
 4501 agaaaactct ggcaggctta agatttgaa taaagtaca gaattaagga agcaactcaa
 4561 tttagtccaa acaagacgcn aacattctct cccagctca cttaactctc tttgttcaga
 4621 tgtggccttc catttatatg tgatctttgt tttattagta aatgcttctc atctaaagat
 4631 gtactctctg cccagtggga aaatttagga agtgattata aatcgagagg agttataata
 4741 atcaagatta aatgtaasta atcagggcaa tcccaacaca tgtctagctt tcaactccag
 4801 gatctattga gtgaacagaa ttgcaaatag tctctatttg taattgaact tctcctaaa
 4861 caaatagttt ataatgtga acctaaactc taattaattc caactgtact ttttaaggcag
 4921 tggctgtttt tagactctct tatcacttat agttagtaat gtacacctac tctatccagag
 4931 aaaaaacagga aaggctcgaa atacaagcaa ttctaaggaa attaggaggt cagttgaat

5041 tctattctga tcttattctg tgggtgtctt tgcagcccag acsaatgtgg ttacacactt
 5101 ttttaagaaat acaattctac attgtcaagg ttatgaagggt tccaatcaga tctttattgt
 5161 tattcaattct ggatctttca gggattcttt ttttaaatta ttatgggaca aaggacattt
 5221 gttggagggg tgggagggag gaagaattct taaatgtaaa acattcccaa gtttggatca
 5281 gggagttgga agttttcaga ataacacaga ctaagggtat gaaggacctg tattggggtc
 5341 gatgtgatgc ctctggaag aacctgtgt gacaaatgag aaacattttg aagtttgtgg
 5401 taagaccttt agattccaga gacatcagca tggctcaaa tgcagctccg tttggcagtg
 5461 caatgggtata aatttcaagg tggatatgtc taatgggtat ttaaacata aatgtgcagt
 5521 ttttaactaac aggatattta atgacaacct tctggttggg agggacatct gtttctaat
 5581 gtttattatg tacaatacag aaaaaattt tataaaatta agcaatgtga aactgaattg
 5641 gagagtgata atacaagtc tttagtctta ccagtgat cattctgttc catgtctttg
 5701 gacacccatg aacttggaca atcatgaaat atgcattctc ctggatgcaa agaaaaatcag
 5761 atggagcatg aatggtactg taccggttca tctggactgc ccagaaaaa taacttcaag
 5821 caaacatctt atcaacaaca aggttgtctt gcataccaag ctgagcacag aagatgggaa
 5881 caotgggtgga ggaaggaaag gctcgtctca tcaagaaaat tctgagacta ttaataaata
 5941 agactgtagt gtagatactg agtaaatcca tgcacctaaa ccttttggaa aatctgacct
 6001 gggccctcca gatagctcat ttcattaatg tttccctcc aaggtagaat ttgcaagagt
 6061 gacagtggat tgcatttctt ttggggaaag tttcttttgg tggttttgtt tattataact
 6121 tcttaagttt tcaaccaagg tttgcttttg ttttgagta ctggggctat tttgtctta
 6181 aataaaaaata agtgcacaa aagtgtcttt gtattgaaag ctttctgtac caagattttc
 6241 atacttttac ctccatggc tctttttaag attgatactt ttaagaggtg gctgatatto
 6301 tgcacacactg tacacataaa aaatacggta aggatacttt acatggctaa ggtaaagtaa
 6361 gtctccagtt ggccaccatt agctataatg gcactttgtt tgtgctgttg gaaaaagtc
 6421 cattgacatt aaactttctt tgtctgtcta gttaatattg tgaagaaaaa taaagtacag
 6481 tgtgagatac tg

SEQ ID NO14::

Приклад амінокислотної послідовності BCL2 Homo sapiens (людини)
 5 (ізоформа альфа).

1 mahagrtgyd nreivmkyih yklsqrgyew dagdvgaapp gaapapgift sqpghtphpa
 61 asrdpvarts plqtpaapga aagpalspvp pvvhltilrqa gddferryrr dfaemssqih
 121 ltpftargrf atvveelfrd gvnwgrivaf fefggvmeve svnzremspiv dnialwmtey
 181 lnrhhtwig dnggwdafe lygpmrplf dfswlsakti lslalvgaci tlgaylghk

Перелік послідовностей

<110> F. Hoffmann-La Roche AG
NanoString Technologies, Inc.

<120> Лікування нової підгрупи пацієнтів із DLBCL за допомогою обінутузумабу

<130> AA1470 PCT S3

<150> US62/542,489

<151> 2017-08-08

<160> 14

<170> BiSSAP 1.3

<210> 1

<211> 119

<212> білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Варіабельна ділянка важкого ланцюга обінутузумабу; химерний поліпептид миші-людини

<400> 1

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	Tyr	Ala	Phe	Ser	Tyr	Ser
		20					25					30			
Trp	Ile	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35				40					45				
Gly	Arg	Ile	Phe	Pro	Gly	Asp	Gly	Asp	Thr	Asp	Tyr	Asn	Gly	Lys	Phe
	50					55				60					
Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65				70					75					80	
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85					90					95		
Ala	Arg	Asn	Val	Phe	Asp	Gly	Tyr	Trp	Leu	Val	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
		100						105					110		
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
		115													

<210> 2

<211> 115

<212> білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Варіабельна ділянка KV1 легкого ланцюга обінутузумабу; химерний поліпептид миші-людини

<400> 2

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro	Gly
1			5					10					15		
Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Lys	Ser	Leu	Leu	His	Ser
		20					25					30			

Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
 85 90 95
 Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg Thr Val
 115

<210> 3
 <211> 357
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує варіабельну ділянку
 важкого ланцюга обінтузумабу; химерна ДНК миші-людини

<400> 3
 cagggtgcaat tgggtgcagtc tggcgctgaa gttaagaagc ctggggagttc agtgaaggtc 60
 tcttgcaagg ctccgggata cgccttcagc tattotttga tcaattgggt ggggcaggcg 120
 cctggacaag ggctcgagtg gatgggacgg atctttcccg gcgatgggga tactgaactac 180
 aatgggaaat tcaagggcag agtcacaatt accgcgcaca aatccactag cacagcctat 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc aagaaatgtc 300
 tttgatggtt actggtttgt ttactggggc cagggaaacc tggtcacgt ctctca 357

<210> 4
 <211> 345
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує варіабельну ділянку KV1
 легкого ланцюга обінтузумабу; химерна ДНК миші-людини

<400> 4
 gatatcgtga tgaccagac tcaactctcc ctgcccgta cccctggaga gcccgccagc 60
 attagctgca ggtctagcaa gagcctcttg cacagcaatg gcactactta ttgtattgg 120
 tacctgcaaa agccagggca gtctccacag ctcttgattt atcaaatgtc caaccttgtc 180
 tctggcgctc ctgaccggtt ctccggatcc gggtcaggca ctgatttcac actgaaaate 240
 agcagggtgg aggtgagga tgttgagtt tattaactgc ctcagaatct agaacttct 300
 tacaccttcg gccgagggac caaggtggag atcaaacgta cggtg 345

<210> 5

<211> 449

<212> білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Важкий ланцюг обінутузумабу

<400> 5

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

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Lys

<210> 6

<211> 219

<212> білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> KV1 легкий ланцюг обінутузумабу

<400> 6

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
 85 90 95
 Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 7

<211> 357

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує варіабельну ділянку
 важкого ланцюга обінутузумабу (B-HH6)

<400> 7

caggtgcaat tgggtgcagtc tgggcgctgaa gtttaagaagc ctgggagttc agtgaaggtc 60

```

tccctgcaagg cttccgggata cgccttcagc tattctttgga tcaattgggt ggggcaggcg 120
cctggacaag ggctcgagtg gatgggaagg atctttcccg gcgatgggga tactgaactac 180
aatgggaaat tcaagggcag agtcacaatt accgcgcaca aatccactag cacagcctat 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcctgtt attactgtgc aagaaatgtc 300
tttgatgggt actggcttgt ttactggggc caggggaacc tggtcacagt ctcctca 357

```

<210> 8

<211> 345

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує варіабельну ділянку KV1 легкого ланцюга обінтузумабу

<400> 8

```

gatatcgtga tgaccagac tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gcccgccagc 60
attagctgca ggtctagcaa gagcctcttg cacagcaatg gcatcactta ttgtattgg 120
tacctgcaaa agccagggca gtctccacag ctcttgattt atcaaatgtc caaccttgtc 180
tctggcgctc ctgacccggt ctccggatcc gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240
agcaggggtg aggtcgagga tgttggagtt tattactggc ctcaaatct agaacttctc 300
tacaccttcg gccgagggac caaggtggag atcaaacgta cggtg 345

```

<210> 9

<211> 451

<212> білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Важкий ланцюг ритуксимабу

<400> 9

```

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1          5          10          15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
          20          25          30
Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
          35          40          45
Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
          50          55          60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65          70          75          80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
          85          90          95
Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly
          100          105          110
Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
          115          120          125

```

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Ala Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asn Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly Lys
450

<210> 10

<211> 213

<212> білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Лейкий ланцюг ритуксимабу

<400> 10

Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Ile
20 25 30
His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr
35 40 45
Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Val Arg Phe Ser Gly Ser

50		55		60
Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu				
65		70		80
Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Ser Asn Pro Pro Thr				
	85		90	95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro				
	100		105	110
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr				
	115		120	125
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Gln Ala Lys				
	130		135	140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu				
145		150		160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser				
	165		170	175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala				
	180		185	190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe				
	195		200	205
Asn Arg Gly Glu Cys				
210				

<210> 11

<211> 1153

<212> UNK

<213> Homo sapiens

<400> 11

gggcgcgcgg ctgccagccc agggcggggc ggagccctac ttctggccga ccgcgtaggc	60
ggtgcttgaa cttagggtcg cttgtggctg ggcactcgcg cagaggccgg ccgcacgagc	120
catggttgct gggagcgacg cggggcgggc cctgggggtc ctcagcgtgg tctgcctgct	180
gcactgcttt ggtttcacta gctgtttttt ccaacaaata tatggtgttg tgtatgggaa	240
tgtaactttc catgtaccaa gcaatgtgcc tttaaaagag gtcctatgga aaaaaacaaa	300
ggataaagtt gcagaactgg aaaattctga attcagagct ttctcatott ttaaaaatag	360
ggtttattta gacactgtgt caggtagcct cactatctac aacttaacat catcagatga	420
agatgagtat gaaatggaat cgcacaaatat tactgatacc atgaagttct ttctttatgt	480
gottgagtct ctccatctc ccacactaac ttgtgcattg actaatggaa gcattgaagt	540
ccaatgcatt ataccagagc attacaacag ccactgagga cttataatgt actcatggga	600
ttgtcttatg gagcaatgta aacgttaact aaccagtata tattttaaga tggaaaatga	660
tcttcacaaa aaaatacagt gtactcttag caatccatta tttaatadaa catcatcaat	720
cattttgaca acctgtatcc caagcagcgg tcattcaaga cacagatatg caattatacc	780
cataccatta gcagtaatta caacatgtat tgtgotgtat atgaatggta ttctgaaatg	840
tgacagaaaa ccagacagaa ccaactccaa ttgattggta acagaagatg aagacaacag	900
cataactaaa ttatttttaa aactaaaaag ccacttgatt tctcatttga gtattacaat	960

```

ttttgaacaa ctgttggaag tgtaacttga agcagctgct ttaagaagaa ataccacta 1020
acaaagaaca agcattagtt ttggotgtca tcaacttatt atatgaactag gtgcttgctt 1080
tttttgtcag taaattgttt ttactgatga tgtagatact ttigttaaata aatgtaaata 1140
tgtacacaag tga 1153

```

<210> 12
 <211> 250
 <212> 61000
 <213> Homo sapiens

```

<400> 12
Met Val Ala Gly Ser Asp Ala Gly Arg Ala Leu Gly Val Leu Ser Val
1      5      10      15
Val Cys Leu Leu His Cys Phe Gly Phe Ile Ser Cys Phe Ser Gln Gln
20     25     30
Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His Val Pro Ser Asn
35     40     45
Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys Asp Lys Val Ala
50     55     60
Glu Leu Glu Asn Ser Glu Phe Arg Ala Phe Ser Ser Phe Lys Asn Arg
65     70     75     80
Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile Tyr Asn Leu Thr
85     90     95
Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Pro Asn Ile Thr Asp
100    105    110
Thr Met Lys Phe Phe Leu Tyr Val Leu Glu Ser Leu Pro Ser Pro Thr
115    120    125
Leu Thr Cys Ala Leu Thr Asn Gly Ser Ile Glu Val Gln Cys Met Ile
130    135    140
Pro Glu His Tyr Asn Ser His Arg Gly Leu Ile Met Tyr Ser Trp Asp
145    150    155    160
Cys Pro Met Glu Gln Cys Lys Arg Asn Ser Thr Ser Ile Tyr Phe Lys
165    170    175
Met Glu Asn Asp Leu Pro Gln Lys Ile Gln Cys Thr Leu Ser Asn Pro
180    185    190
Leu Phe Asn Thr Thr Ser Ser Ile Ile Leu Thr Thr Cys Ile Pro Ser
195    200    205
Ser Gly His Ser Arg His Arg Tyr Ala Leu Ile Pro Ile Pro Leu Ala
210    215    220
Val Ile Thr Thr Cys Ile Val Leu Tyr Met Asn Gly Ile Leu Lys Cys
225    230    235    240
Asp Arg Lys Pro Asp Arg Thr Asn Ser Asn
245    250

```

<210> 13
 <211> 6492
 <212> DHK
 <213> Homo sapiens

```

<400> 13
tttctgtgaa gcagaagtct gggaatcgat ctggaaatcc tcttaatttt tactccctct 60
ccccggagact cctgattcat tgggaagttt caaatcagct ataactggag agtgcctgaag 120

```

attgatggga tcgttgcott atgcatttgt tttggtttta caaaaaggaa acttgacaga	180
ggatcatgct gtacttaaaa aatacaacat cacagaggaa gtagactgat attaacaata	240
cttactaata ataacgtgoc tcatgaaata aagatocgaa aggaattgga ataaaaattt	300
cctgcatttc atgccaaggg ggaacacca gaatcaagtg ttccgcgtga ttgaagacac	360
ccctctgttc aagaatgcaa agcacatcca ataaaatagc tggattataa ctctctttct	420
ttctctgggg gcctgtgggt gggagctggg gcgagaggtg ccgttgccc ccgttgcttt	480
tcctctggga aggatgggc acgtggggag aacagggtac gataaccggg agatagtgat	540
gaagtacatc cattataagc tgtgcagag gggctacgag tgggatgcgg gagatgtggg	600
cgcgcgcgcc ccgggggcgg cccccgcacc gggcatcttc tctcccage ccgggcacac	660
gccccatcca gcgcattccc gggaccgggt cgcaggacc tcgcgcgtgc agaccocggc	720
tgcccccggc gcgcgcggg ggctgcgtt ccgcocgggt ccacctgtgg tccacctgac	780
cctccgccag gcgggcgacg acttctccg ccgtaccgc cgcacttcg ccgagatgtc	840
cagccagctg cactgacgc ccttcacgc ggggggacgc ttgtccacgg tgggtggagga	900
gctcttcagg gacggggtga actgggggag gattgtggc ttctttgagt tcggtgggg	960
catgtgtgtg gagagcgtc accgggagat gtgcacctg gtggacaaca tcgcctgtg	1020
gatgaactgac tacctgaacc gccacctgca cactggatc caggataacg gaggtggga	1080
tgcccttgtg gaactgtacg gccccagcat gcggcctctg ttgatttct cctggctgtc	1140
tctgaagaat ctgtcagtt tggccctggt gggagcttgc atccacctgg gtgcctatct	1200
gggccacaag tgaagtcaac atgcctgcc caacaaata tgcaaaagg tcaactaaagc	1260
agtagaaaata atatgcattg tcagtgatgt accatgaaac aaagctgcag gctgtttaag	1320
aaaaaataac acacatataa acatcacaca cacagacaga cacacacaca cacaacaatt	1380
aacagtcttc aggcaaaaag tcgaatcagc tatttaactgc caaagggaaa tatcatttat	1440
tttttacatt attaaagaaa aaagatttat ttatttaaga cagtcaccat aaaaactcctg	1500
tccttggaac tcgaaccaat aattgccaag caccgcttcg tgtggctcca cctggatgtt	1560
ctgtgcctgt aaacatagat tcgctttcca tgttgttggc cggatcacca tctgaagagc	1620
agacggatgg aaaaaggacc tgaatcattg ggaagctggc tttctggctg ctggaggctg	1680
gggagaagggt gtccattcac ttgcatttct ttgcctggg ggcgtgtgata ttaacagagg	1740
gagggttcct gtggggggaa gtccatgcct ccctggcctg aagaagagac tctttgcata	1800
tgactcacat gatgcatacc tgggtggagg aaaagagttg ggaacttcag atggacotag	1860
taccactga gatttcacg ccgaaggaca gcgatgggaa aaatgccctt aaatcatagg	1920

aaagtatttt ttttaagctac caattgtgcc gagaaaagca ttttagcaat ttatacaata 1980
 tcatccagta ccttaagccc tgattgtgta tattcatata ttttggatac gacccccca 2040
 actcccaata ctggctctgt ctgagtaaga aadagaatcc tctggaactt gaggaagtga 2100
 acatttcggt gacttcgca tcaggaaggc tagagttacc cagagcatca ggccgccaca 2160
 agtgcctgct tttaggagac cgaagtcgc agaacctgcc tgtgtcccag cttggaggcc 2220
 tggctcctgga actgagccgg ggccctcact ggccctctcc agggatgac aacagggcag 2280
 tgtggtctcc gaatgtctgg aagctgatgg agctcagaat tccactgtca agaaagagca 2340
 gtagaggggt gtggctgggc ctgtcaccct ggggcccctcc aggtaggccc gttttcaagt 2400
 ggagcatggg agccaagacc cttcttaaga catgtatcac tgtagaggga aggaacagag 2460
 gccctggggc ctctctatca gaaggacatg gtgaaggctg ggaacgtgag gagaggcaat 2520
 ggccacggcc cattttgget gtagcacatg gcacgttggc tgtgtggcct tggcccacct 2580
 gtgagtttaa agcaaggcct taaatgactt tggagagggt caccaaatcc aaaagaagca 2640
 ttgaagtgag gtgtcatgga ttaattgacc cctgtctatg gaattacatg taaaacatta 2700
 tcttgtcaact gtagtttggg ttattttgaa aacctgacaa aaaaaaagtt ccaggtgtgg 2760
 aatatggggg ttatctgtac atcctggggc attaaaaaaa aaatcaatgg tggggaaacta 2820
 taaagaagta acaaaagaag tgacatcttc agcaataaaa ctaggaaatt tttttttctt 2880
 ccagtttaga atcagccttg aaacattgat ggaataactc tgtggcatta ttgcattata 2940
 taaccatttat ctgtattaac ttiggaatgt actctgttca atgtttaatg ctgtggttga 3000
 tatttcgaaa gctgctttta aaaaatacat gcatctcagc gtttttttgt ttttaattgt 3060
 atttagttat ggccatatac ctatttttga gcaaagggtga tctttttctg tttgagattt 3120
 ttatctcttg attcttcaaa agcattctga gaagggtgag taagccctga gtctcagcta 3180
 cctaagaaaa acctggatgt cactggccac tgaggagctt tgtttcaacc aagtcatgtg 3240
 catttccag tcaacagaat tgtttattgt gacagttata tctgttgtcc ctttgacctt 3300
 gtttcttgaa ggtttcctcg tccctgggca attcgcatt taattcatgg tattcaggat 3360
 tacatgcatg tttagttaaa cccatgagat tcattcagtt aaaaatccag atggcaaatg 3420
 accagcagat tcaaatctat ggtggtttga ccttttagaga gttgccttac gtggcctgtt 3480
 tcaacacaga cccacccaga gccctcctgc cctccttccg cgggggcttt ctcatggctg 3540
 tccttcaggg tcttctgaa atgcagtggg gcttacgctc caccaagaaa gcaggaaacc 3600
 tgtggtatga agccagacct ccccgccggg cctcagggaa cagaatgatc agacctttga 3660

atgattotaa tttttaagca aaatattatt ttatgaaagg tttacattgt caaagtgatg	3720
aatatggaat atccaatect gtgtgtctat cctgccc aaa tcattttaat ggagtcagtt	3780
tgcagtatgc tccacgtggg aagatccctc aagctgcttt agaagtaaca atgaagaacg	3840
tggacgtttt taatataaag cctgttttgt cttttgttgt tgttcaaaag ggattcaacg	3900
agtatttgaa aaatgtatat atattaagag gtcacggggg ctaattgctg gctggctgcc	3960
ttttgtgtg gggttttgtt acctggtttt aataacagta aatgtgccc gctcttggc	4020
cccagaaatg tacagtattg tggctgcaat tgcctctaaga gtagttagtg ttgcatttcc	4080
cttattgtta aaaacatgtt agaagcaatg aatgtatata aaagcccaa ctagtcattt	4140
ttttctctc ttcttttttt tcattatata taattatttt gcagttgggc aacagagaac	4200
catccctatt ttgtattgaa gagggattca catctgcac ttaactgctc tttatgaatg	4260
aaaaaacagt cctctgtatg tactcctctt taactggcc agggtcagag ttaaatagag	4320
tatatgcaat ttccaaattg gggacaaggg ctctaaaaaa agccccaaa ggagaagaac	4380
atctgagaac ctctctggcc ctcccagtc ctgctgcac aaatactccg caagagagggc	4440
cagaatgaca gctgacaggg tctatggcca tggggtctgc tccgaagatt tggcaggggc	4500
agaaaactct ggcaggetta agatttggaa taaagtcaca gaattaagga agcacctcaa	4560
tttagttcaa acaagaagcc aacattctct ccacagctca cttacctctc tgtgttcaga	4620
tgtggccttc catttatatg tgatctttgt tttattagta aatgcttata atctaagat	4680
gtagctctgg ccagtgggg aaaattagga agtgattata aatcgagagg agttataata	4740
atcaagatta aatgtaaata atcagggcaa tcccacaca tgtctagott tcacctocag	4800
gatctattga gtgaacagaa ttgcaaatag tctctatttg taattgaaat tctctaaaa	4860
caaatagttt ataatgtga acttaaaact taattaattc caactgtaat ttttaaggcag	4920
tggctgtttt tagactttct tatcacttat agttagtaat gtacacctac tctatcagag	4980
aaaaacagga aaggctcgaa atacaagcca ttctaaggaa attagggagt cagttgaaat	5040
tctattctga tcttattctg tgggtgtctt tgcagcccag acaaatgtgg ttacacactt	5100
tttaagaaat acaattctac attgtcaagc ttatgaaggt tccaatcaga tctttattgt	5160
tattcaattt ggatctttca gggatttttt ttttaaatta ttatgggaca aaggacattt	5220
gttgaggggg tgggaggag gaagaatttt taaatgtaaa acattccaa gtttggatca	5280
gggagttgga agttttcaga ataacagaa ctaagggtat gaaggacctg tattgggggc	5340
gatgtgatgc ctctgcgaag aacctgtgt gaacaaatgag aaacattttg aagtttgtgg	5400
tacgaccttt agattccaga gacatcagca tggctcaaag tgcagctccg ttggcagtg	5460

```

caatggtata aatttcaagc tggatatgtc taatgggtat ttaaacaata aatgtgcagt 5520
tttaactaac aggatattta atgacaacct totggttggg agggacatct gtttctaaat 5580
gtttattatg tacaatacag aaaaaaattt tataaaatta agcaatgtga aactgaattg 5640
gagagtgata atacaagtc ctttagtctta cccagtgaat cattctgttc catgtctttg 5700
gacaaccatg accttggaca atcatgaaat atgcctctca ctggatgcaa agaaaatcag 5760
atggagcatg aatggtactg tacgggttca tctggactgc cccagaaaaa taacttcaag 5820
caaacatctt atcaacaaca aggttgttct gdataccaag ctgagcacag aagatgggaa 5880
cactggtgga ggtatggaaag gctcgctcaa tcaagaaaat tctgagacta ttaataaata 5940
agactgtagt gtagatactg agtaaatcca tgcacctaaa ccttttggaa aatctgcctg 6000
gggcccctca gatagctcat ttcattaat tttccctcc aaggtagaat ttgcaagagt 6060
gacagtggat tgcatttctt ttggggaagc tttcttttgg tggttttgtt tattatact 6120
tcttaagttt tcaaccaagg ttgtttttg ttttgagta ctgggggtat tttgtttta 6180
aataaaaaata agtgtacaat aagtgtttt gtattgaaag cttttgttat caagatttct 6240
atactttttc cttccatggc tctttttaag attgatactt ttaagaggtg gctgatattc 6300
tgcaacactg tacacataaa aaatacggta aggatacttt acatgggtaa ggtaaagtaa 6360
gtctccagtt ggcaccatt agctataatg gcactttgtt tgtgttgttg gaaaaagtc 6420
cattgccatt aaactttct tgtctgtcta gttaatatg tgaagaaaaa taaagtacag 6480
tgtgagatac tg 6492

```

<210> 14

<211> 239

<212> Билор

<213> Homo sapiens

<400> 14

```

Met Ala His Ala Gly Arg Thr Gly Tyr Asp Asn Arg Glu Ile Val Met
1          5          10          15
Lys Tyr Ile His Tyr Lys Leu Ser Gln Arg Gly Tyr Glu Trp Asp Ala
20        25        30
Gly Asp Val Gly Ala Ala Pro Pro Gly Ala Ala Pro Ala Pro Gly Ile
35        40        45
Phe Ser Ser Gln Pro Gly His Thr Pro His Pro Ala Ala Ser Arg Asp
50        55        60
Pro Val Ala Arg Thr Ser Pro Leu Gln Thr Pro Ala Ala Pro Gly Ala
65        70        75        80
Ala Ala Gly Pro Ala Leu Ser Pro Val Pro Pro Val Val His Leu Thr
85        90        95
Leu Arg Gln Ala Gly Asp Asp Phe Ser Arg Arg Tyr Arg Arg Asp Phe
100       105       110
Ala Glu Met Ser Ser Gln Leu His Leu Thr Pro Phe Thr Ala Arg Gly

```

```

      115      120      125
Arg Phe Ala Thr Val Val Glu Glu Leu Phe Arg Asp Gly Val Asn Trp
      130      135      140
Gly Arg Ile Val Ala Phe Phe Glu Phe Gly Gly Val Met Cys Val Glu
      145      150      155      160
Ser Val Asn Arg Glu Met Ser Pro Leu Val Asp Asn Ile Ala Leu Trp
      165      170      175
Met Thr Glu Tyr Leu Asn Arg His Leu His Thr Trp Ile Gln Asp Asn
      180      185      190
Gly Gly Trp Asp Ala Phe Val Glu Leu Tyr Gly Pro Ser Met Arg Pro
      195      200      205
Leu Phe Asp Phe Ser Trp Leu Ser Leu Lys Thr Leu Leu Ser Leu Ala
      210      215      220
Leu Val Gly Ala Cys Ile Thr Leu Gly Ala Tyr Leu Gly His Lys
      225      230      235

```

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 1. Гуманізоване антитіло II типу до CD20, яке включає (а) варіабельну ділянку важкого ланцюга, як представлено в SEQ ID NO:1 або як міститься в SEQ ID NO:5 (амінокислотні залишки 1-119), та варіабельну ділянку легкого ланцюга, як представлено в SEQ ID NO:2 або як міститься в SEQ ID NO:6 (амінокислотні залишки 1-115); або (б) варіабельну ділянку важкого ланцюга, яка кодується послідовністю нуклеїнової кислоти, яка є принаймні на 80 % ідентична до SEQ ID NO:3 або SEQ ID NO:7, та варіабельну ділянку легкого ланцюга, яка кодується послідовністю нуклеїнової кислоти, яка є принаймні на 80 % ідентична до SEQ ID NO:4 або SEQ ID NO:8, де вказане антитіло здатне викликати підвищену антитілозалежну клітинну цитотоксичність (ADCC) в порівнянні із ритуксимабом, здатне викликати підвищений антитілозалежний клітинний фагоцитоз (ADCP) в порівнянні із ритуксимабом та/або має підвищену афінність до FcγRIII-рецепторів в порівнянні із ритуксимабом, для застосування для лікування дифузної великоклітинної В-клітинної лімфоми (DLBCL) у пацієнта, який відповідає на лікування із застосуванням обінутумабу шляхом досягнення поліпшеного клінічного результату в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу, де вказаний пацієнт являє собою: (I) пацієнта з однією або декількома мутаціями в одному або декількох генах, вибраних із групи,
 - 10 яка включає CREBBP, EP300, MEF2B, MYC, EZH2 та TNFRSF14; (II) пацієнта з (а) генетичною(ими) мутацією(ями) в CD58 та/або із низькою експресією CD58, яка відповідає $\log_2$ (нормалізовані зчитування на мільйон т.п.н. (nRPKM)) $\leq 5,2$; (III) пацієнта з підтипом клітин-попередників (COO) DLBCL, що являє собою подібні до В-клітини зародкового центру (GCB) DLBCL, як визначено за допомогою оцінки лінійного передбачення (LPS) < 1141 (сильні GCB DLBCL); та/або (IV) BCL2-транслокованого DLBCL пацієнта та/або DLBCL пацієнта з високою BCL2 експресією, де ≥ 50 % пухлинних клітин експресує BCL2.
 - 15 2. Антитіло для застосування за п. 1, де вказаний клінічний результат представляє виживання без прогресування захворювання (PFS), загальне виживання (OS) та/або безподійне виживання (EFS).
 - 30 3. Антитіло для застосування за п. 1 або 2, де вказаний пацієнт являє собою: (I) пацієнта, як визначено в п. 1(I); та (II) пацієнта, як визначено в п. 1(II).
 4. Антитіло для застосування за будь-яким з пп. 1-3, зокрема за п. 3(I), де вказаний пацієнт являє собою (I) пацієнта, як визначено в п. 1(III); та (II) пацієнта, як визначено в п. 1(IV).
 - 35 5. Антитіло для застосування за будь-яким з пп. 1-4, зокрема за п. 1(III) або 4(I), де вказаний пацієнт ідентифікований шляхом визначення експресії набору генів, що включає один або декілька (переважно всі) генів TNFRSF13B, LIMD1, IRF4, CREB3L2, PIM2, CYB5R2, RAB7L1 та CCDC50; та MME, SERPINA9, ASB13, MAML3, ITPKB, MYBL1 та S1PR2.
 6. Антитіло для застосування за п. 4(I) або 5, де вказаний пацієнт із сильною GCB DLBCL являє собою пацієнта, який має пухлину із зваженою експресією набору генів, що включає один або
 - 40 декілька (переважно всі) генів TNFRSF13B, LIMD1, IRF4, CREB3L2, PIM2, CYB5R2, RAB7L1 та CCDC50; та MME, SERPINA9, ASB13, MAML3, ITPKB, MYBL1 та S1PR2, що приводить до оцінки лінійного передбачення (LPS) < 1141 .
 7. Антитіло для застосування за п. 5 або 6, де вказаний набір генів додатково містить один або декілька (переважно всі) генів R3HDM1, WDR55, ISY1, UBXN4 та TRIM56.

8. Антитіло для застосування за будь-яким з пп. 5-7, де експресія вказаних одного або декількох генів, як визначено в п. 5 або 6, нормалізована до експресії одного або декількох (переважно всіх) генів, як визначено в п. 7.

5 9. Антитіло для застосування за будь-яким з пп. 1-8, де вказаний LPS становить зважену суму експресії (вказаних) генів, розраховану відповідно до наступної формули (формула I): $LPS(X) = \sum j \cdot a_j X_j$, де X_j являє собою експресію гена для гена j та a_j являє собою коефіцієнт для гена j .

10. Антитіло для застосування за будь-яким з пп. 1-9, де експресія (вказаних) генів визначається за допомогою NanoString Research Use Only Lymphoma Subtyping Test (LST) (NanoString Technologies, Inc., Seattle, WA, USA).

11. Антитіло для застосування за будь-яким з пп. 1-10, де вказаний LPS становить ≤ 1100 .

12. Антитіло для застосування за будь-яким з пп. 1-11, де вказаний LPS становить ≤ 749 .

13. Антитіло для застосування за будь-яким з пп. 1-12, де вказаний LPS становить ≤ 725 .

15 14. Антитіло для застосування за будь-яким з пп. 1-13, де вказане антитіло включає Fc-ділянку з модифікованою схемою глікозилювання.

15. Антитіло для застосування за п. 14, де вказане антитіло має збільшену фракцію нефукозильованих олігосахаридів, з'єднаних із вказаною Fc-ділянкою з модифікованою схемою глікозилювання.

20 16. Антитіло для застосування за п. 14 або 15, де вказане антитіло має збільшену фракцію роздвоєних, нефукозильованих олігосахаридів, з'єднаних із вказаною Fc-ділянкою з модифікованою схемою глікозилювання.

17. Антитіло для застосування за будь-яким з пп. 1-16, зокрема за п. 14, де вказане антитіло має суттєво вищі рівні зв'язування з FcγRIII-рецепторами людини відносно антитіла без модифікованої схеми глікозилювання та/або відносно ритуксимабу.

25 18. Антитіло для застосування за будь-яким з пп. 1-17, зокрема за п. 14, де вказане антитіло має суттєво вищі рівні ADCC активності відносно антитіла без модифікованої схеми глікозилювання та/або відносно ритуксимабу.

19. Антитіло для застосування за будь-яким з пп. 1-18, де вказане антитіло являє собою обінутузумаб (Gazyva™/Gazyvaro™; GA101).

30 20. Антитіло для застосування за будь-яким з пп. 1-19, де вводять один або декілька додаткових інших цитотоксичних або хіміотерапевтичних агентів або іонізуюче випромінювання, яке посилює ефекти такого(их) агента(ів).

21. Антитіло для застосування за будь-яким з пп. 1-20, де вказане антитіло вводять в комбінації з СНОР-хіміотерапією.

35 22. Антитіло для застосування за будь-яким з пп. 1-21, де вказане антитіло міститься в фармацевтичній композиції, яка містить фармацевтично прийнятний носій.

23. Спосіб ідентифікації DLBCL пацієнта (пацієнта із/який страждає від DLBCL), який відповідає на лікування із застосуванням обінутузумабу шляхом досягнення поліпшеного клінічного результату в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу, вказаний спосіб включає (стадію) визначення (наприклад, шляхом застосування зразка (пухлини) пацієнта), чи пацієнт являє собою пацієнта, як визначено в будь-якому з пп. 1-13.

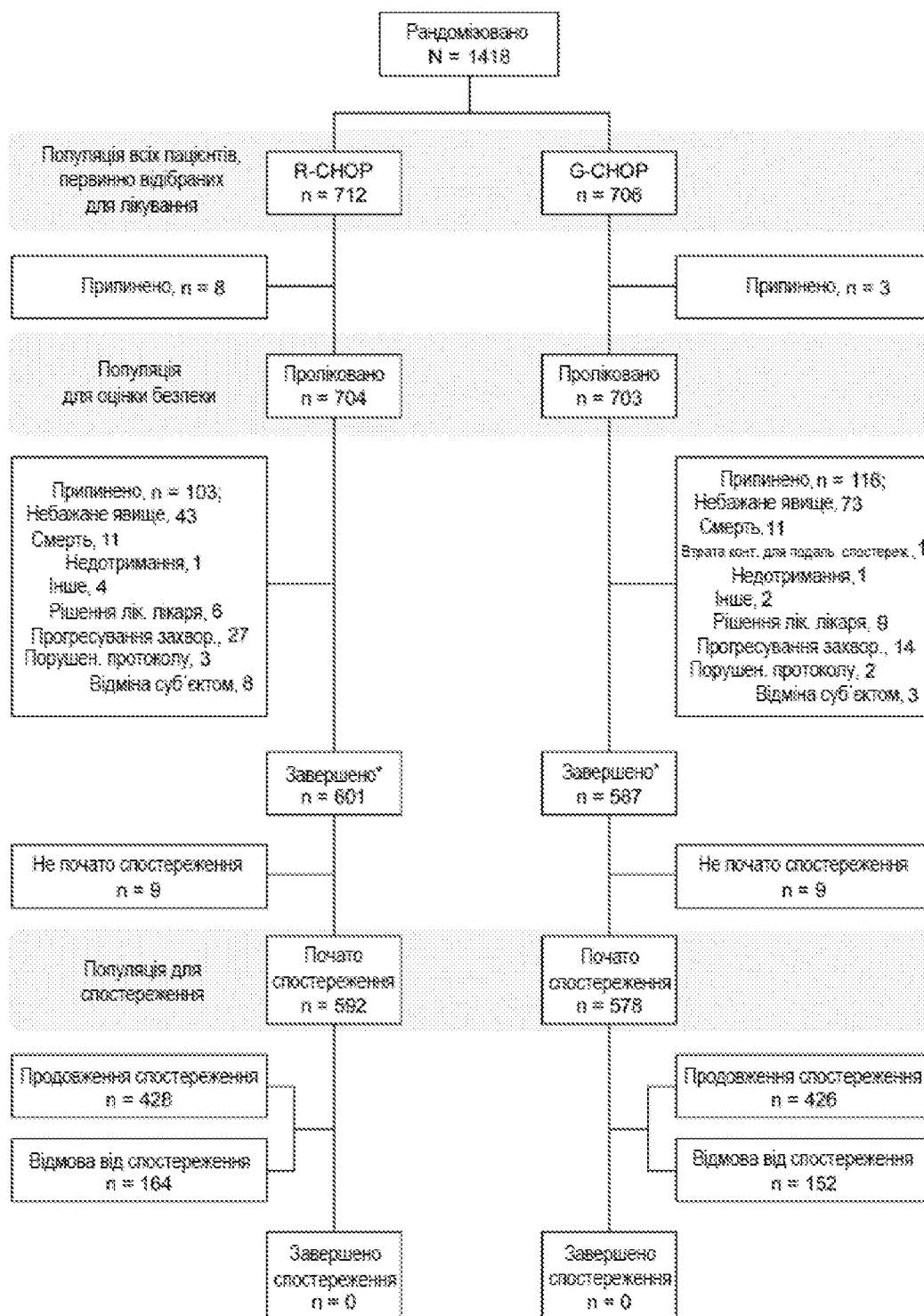
40 24. Спосіб діагностики у пацієнта форми DLBCL, яка може піддаватися лікуванню із застосуванням обінутузумабу таким чином, що досягається поліпшений клінічний результат в порівнянні із лікуванням із застосуванням ритуксимабу, вказаний спосіб включає (стадії) визначення (наприклад, шляхом застосування зразка (пухлини) пацієнта), чи пацієнт являє собою пацієнта, як визначено в будь-якому з пп. 1-13, та діагностування вказаної форми DLBCL, якщо пацієнт являє собою пацієнта, як визначено в будь-якому з пп. 1-13.

45 25. Антитіло для застосування за будь-яким з пп. 1-22, де (I) було визначено (наприклад, шляхом застосування зразка (пухлини) пацієнта), чи вказаний пацієнт являє собою пацієнта, як визначено в будь-якому з пп. 1-13, де (II) вказаний пацієнт був ідентифікований відповідно до способу за п. 23, або де (III) форма DLBCL була діагностована у вказаного пацієнта відповідно до способу за п. 24.

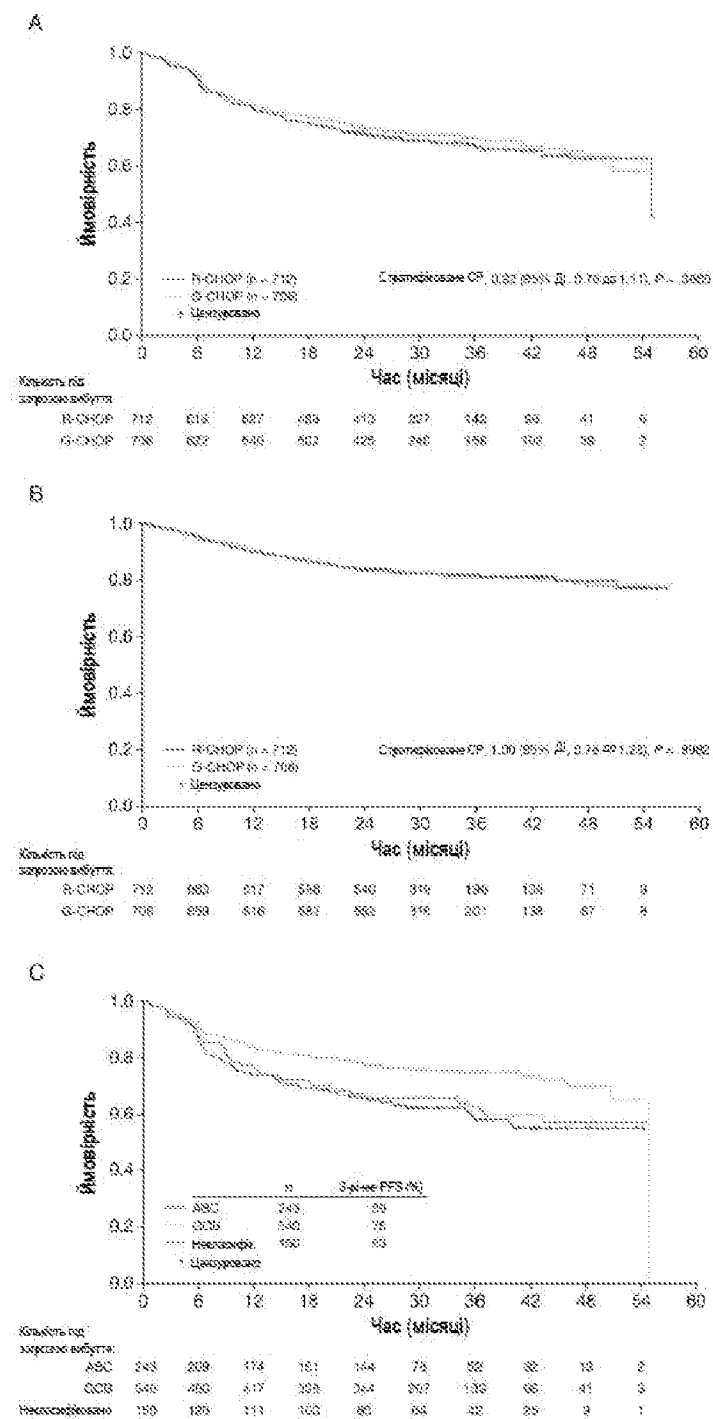
50 26. Антитіло для застосування за будь-яким з пп. 1-22 та 25, де вказане лікування включає стадію (I) визначення (наприклад, шляхом застосування зразка (пухлини) пацієнта), чи пацієнт, який підлягає лікуванню, являє собою пацієнта, як визначено в будь-якому з пп. 1-13, (II) ідентифікацію DLBCL пацієнта відповідно до способу за п. 23, або (III) діагностування у пацієнта форми DLBCL відповідно до способу за п. 24.

55 27. Спосіб лікування DLBCL у пацієнта, який цього потребує, де вказаний пацієнт являє собою пацієнта, як визначено в будь-якому з пп. 1-13, де спосіб включає стадії визначення (наприклад, шляхом застосування зразка (пухлини) пацієнта), чи пацієнт являє собою пацієнта, як

визначено в будь-якому з пп. 1-13, та введення фармацевтично ефективної кількості антитіла, як визначено в будь-якому з пп. 1 та 14-22, вказаному пацієнту.

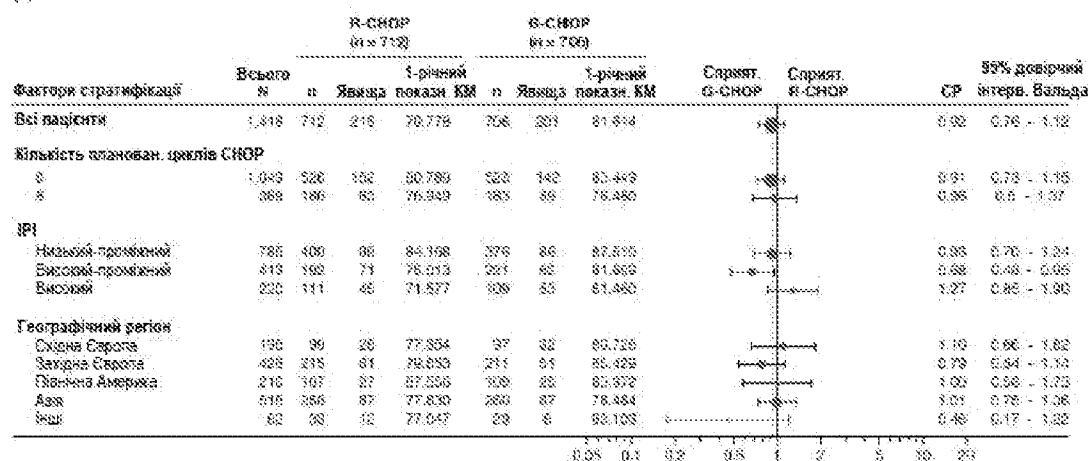


Фігура 1

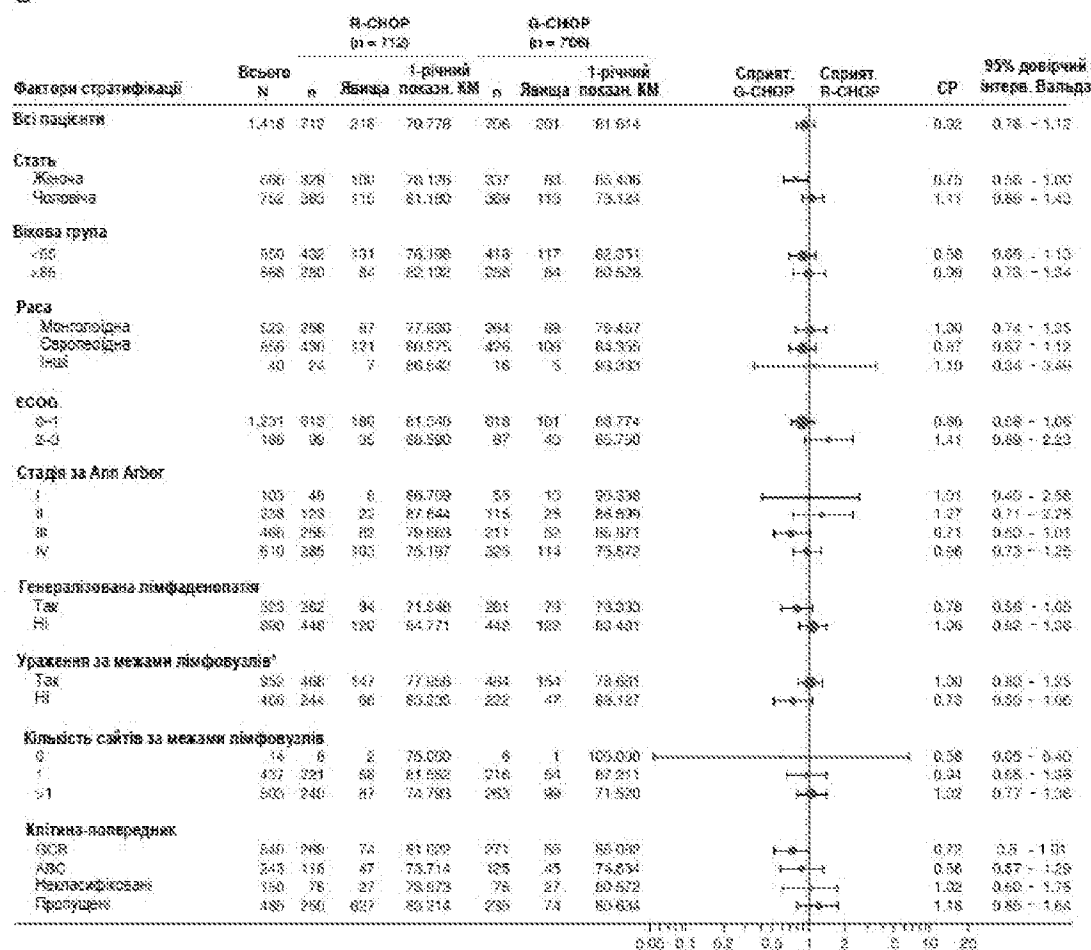


Фігура 2

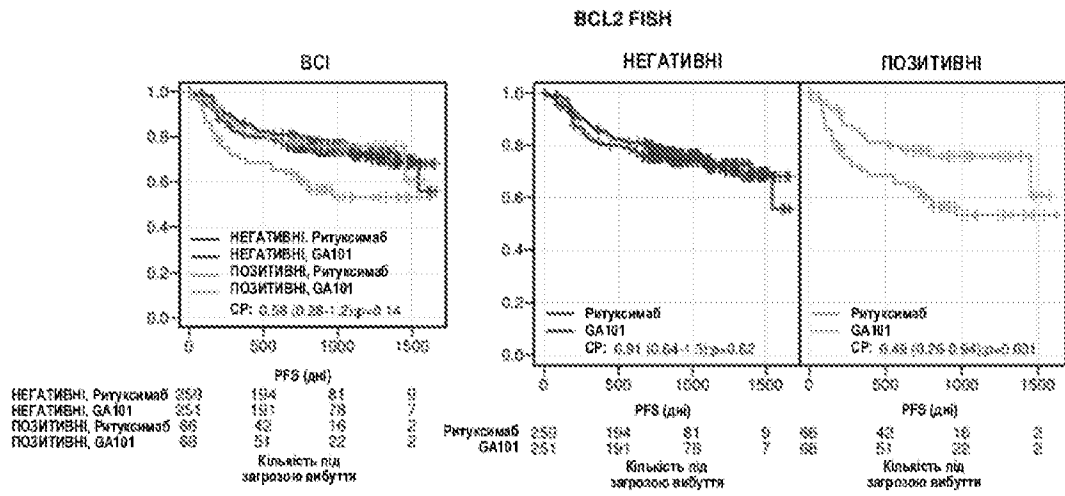
A



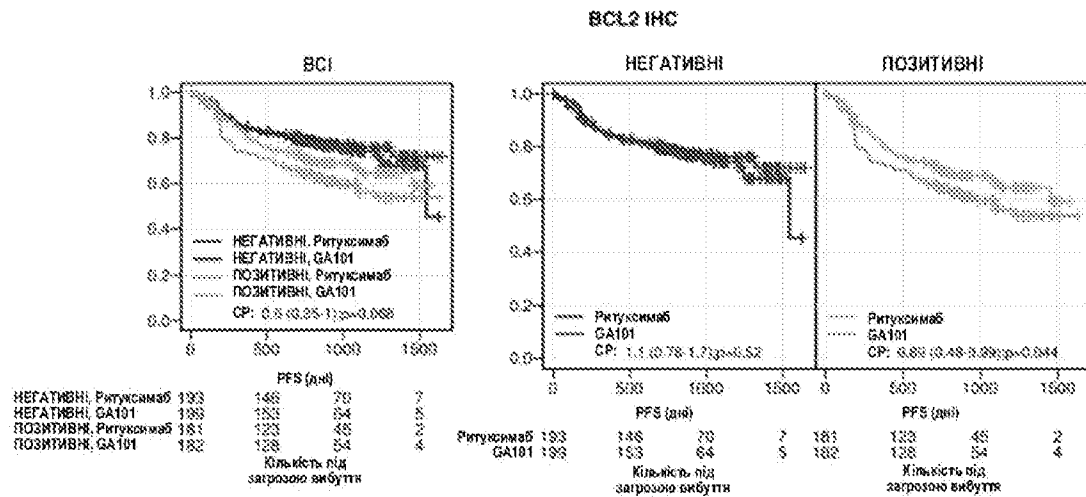
B



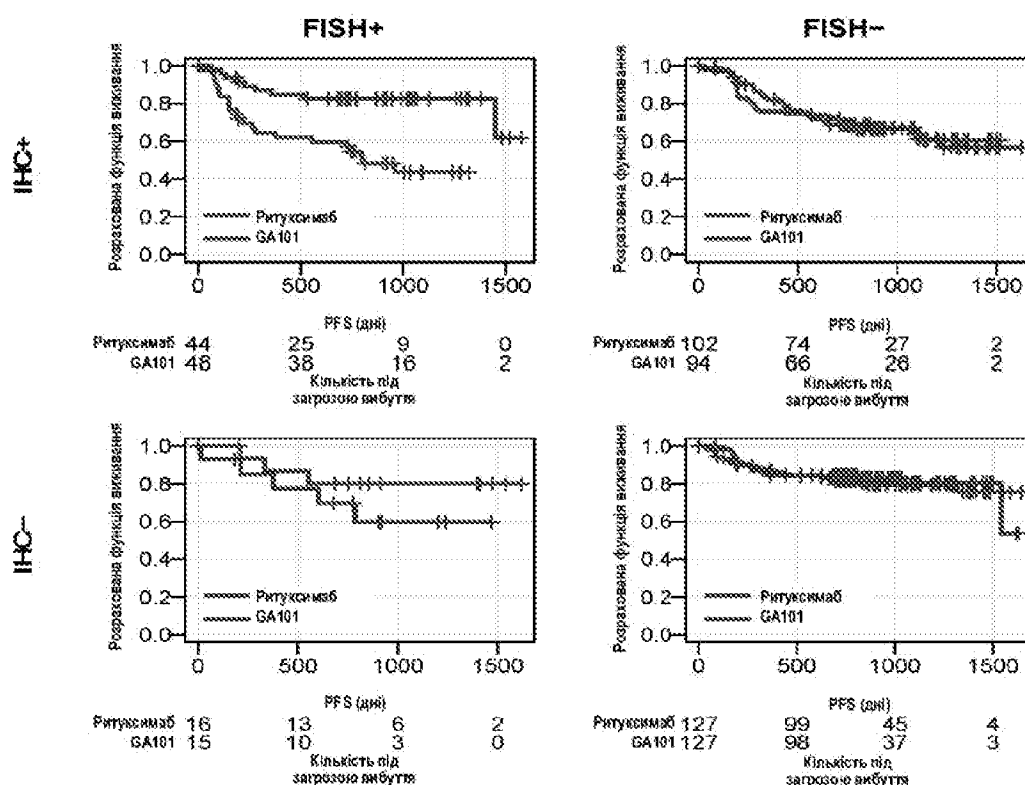
Фігура 3



Фігура 4

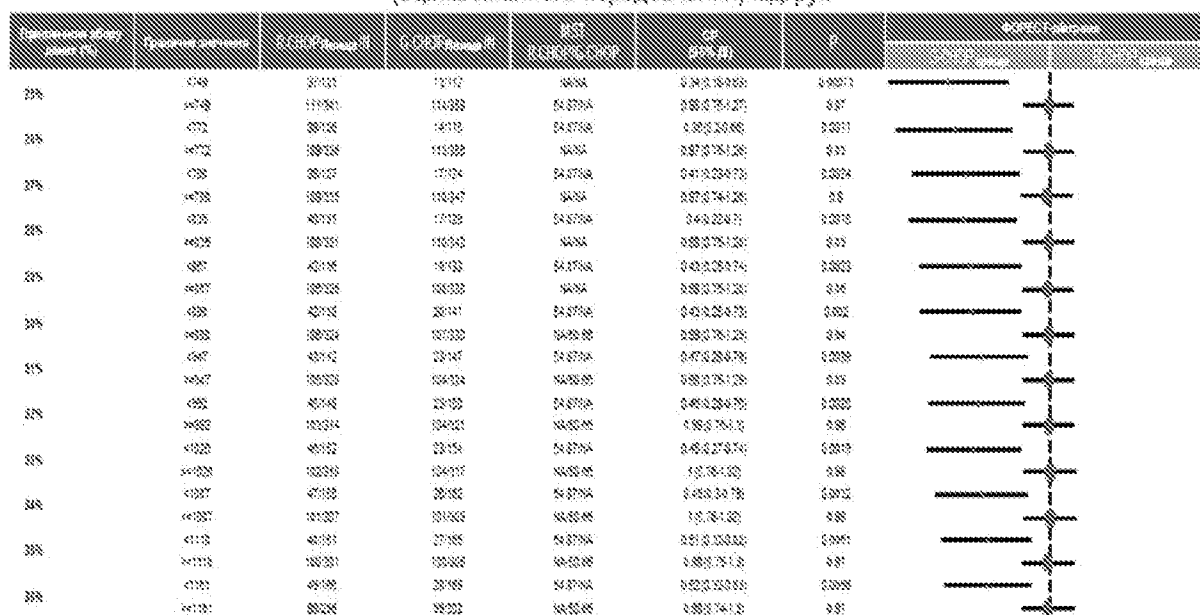


Фігура 5



Фигура 6

FOREST-діаграма: Взаємозв'язок ефекту лікування із наслідками виживання FFS в межах LPS (оцінка лінійного передбачення) підгруп

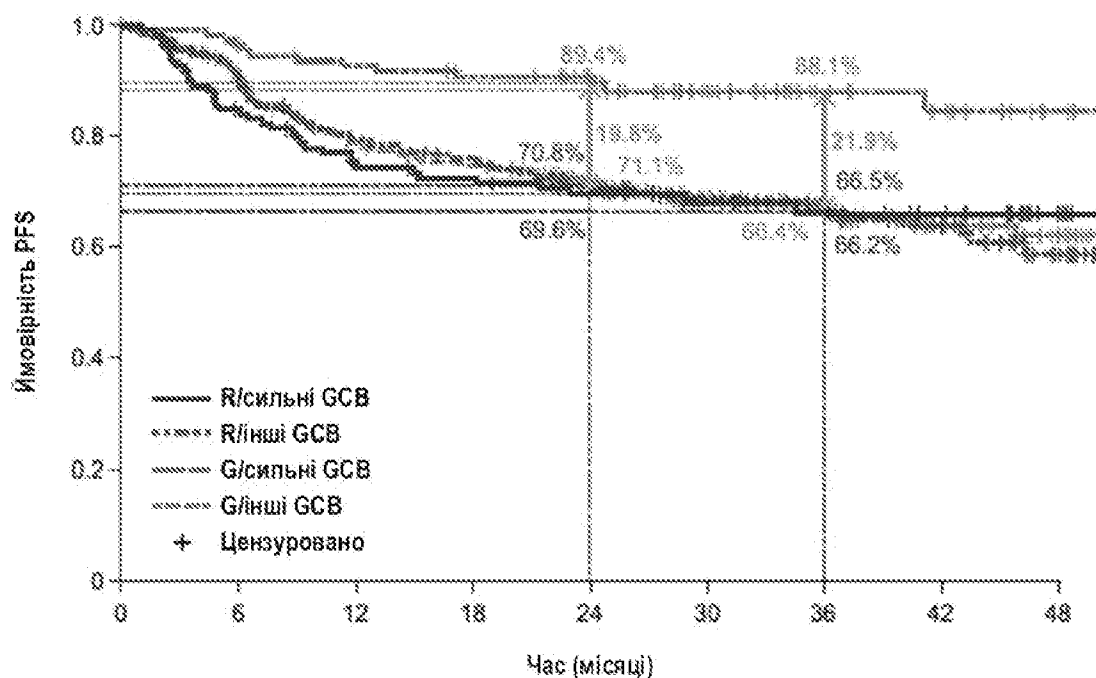


Φίλντσα 7Α

ФОРЕСТ-діаграма: Взаємозв'язок ефекту лікування із наслідками виживання PFS в межах LPS (оцінка лінійного передбачення) підгруп

Призначення лікув. дозою (%)	Тривалість лікування	R/Сильні GCB Лейкемія	R/Сильні GCB Лейкемія	R/Сильні GCB Лейкемія	CP 95% ДІ	P	ФОРЕСТ-діаграма	Лейкемія
17T		218/712	201/708	54/873A	0.52 (0.78-1.93)	0.43		
Одинесоні Віларсеп		148/462	127/471	64/873A	0.52 (0.51-1.38)	0.997		
25%	<24h	201/624	171/612	54/873A	0.34 (0.18-0.53)	0.00073		
	>=24h	111/341	114/368	54/873A	0.58 (0.75-1.87)	0.87		
30%	<20h	40/136	20/141	54/873A	0.41 (0.25-0.73)	0.002		
	>=20h	108/326	107/329	54/873A	0.55 (0.78-1.38)	0.54		
35%	<11h	40/184	27/185	54/873A	0.34 (0.20-0.55)	0.0001		
	>=11h	108/301	103/306	54/873A	0.58 (0.75-1.3)	0.81		
40%	<13h	53/186	33/185	54/873A	0.61 (0.39-0.94)	0.005		
	>=13h	95/274	94/286	54/873A	0.37 (0.71-1.37)	0.61		
45%	<14h	50/208	41/210	54/873A	0.58 (0.46-0.93)	0.003		
	>=14h	90/287	90/281	54/873A	0.51 (0.67-1.32)	0.52		
50%	<15h	62/230	44/236	54/873A	0.67 (0.48-0.98)	0.04		
	>=15h	91/232	83/235	54/873A	0.56 (0.71-1.38)	0.71		

Фігура 7B

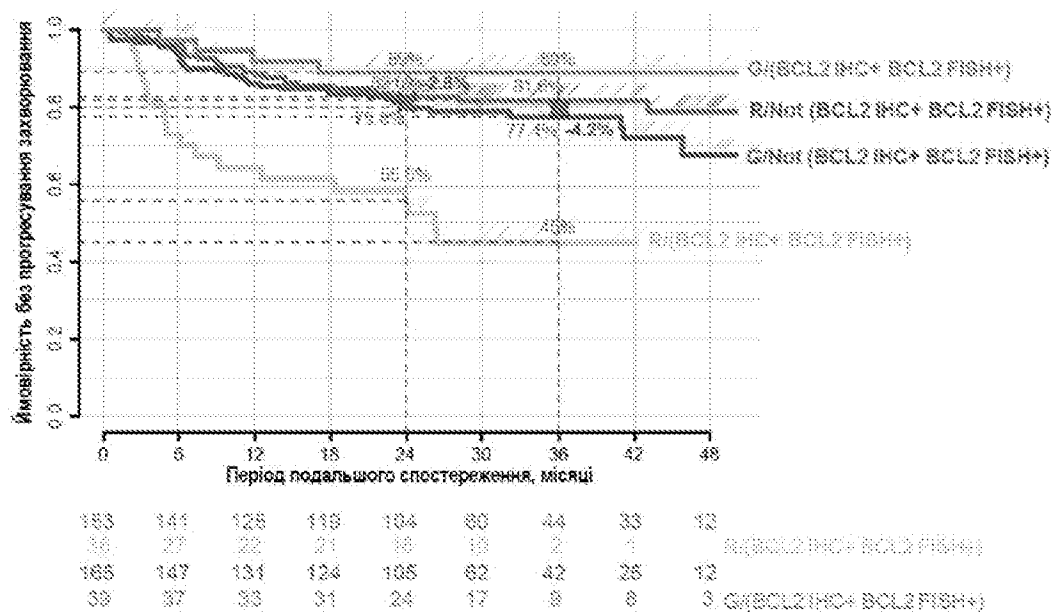


Кількість пацієнтів в групі ризику

—	121	98	82	78	66	44	28	25	9
- - -	341	301	256	242	208	122	81	52	21
...	112	103	95	90	79	48	27	20	8
- . -	359	314	269	252	221	137	90	57	25

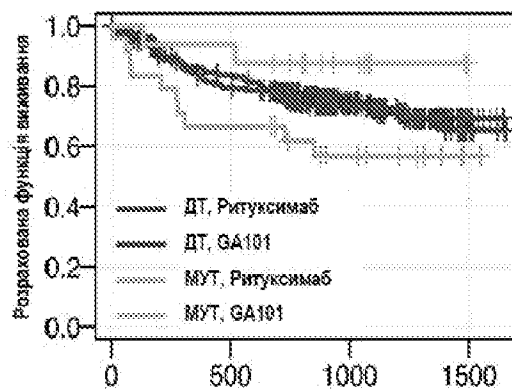
G - обінутудумаб; GCB - В-клітина зародкового центру; PFS - виживання без ознак прогресування захворювання; R - ритуксимаб

Фігура 7C



Фігура 8

КМ (PFS) в GOYA для
CD58 мутації
(будь-який тип мутації)

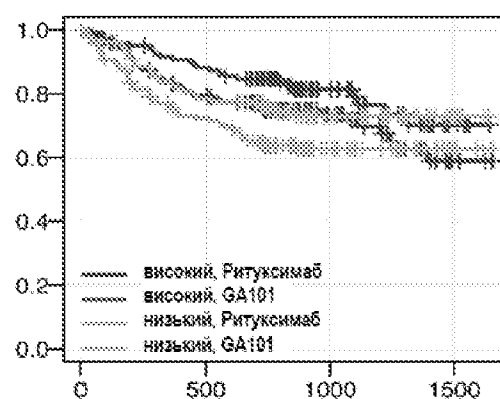


	PFS (дні)			
DT, Ритуксимаб	228	172	73	8
DT, GA101	231	170	71	6
МУТ, Ритуксимаб	24	16	9	1
МУТ, GA101	16	15	7	0

Кількість під загрозою вибуття

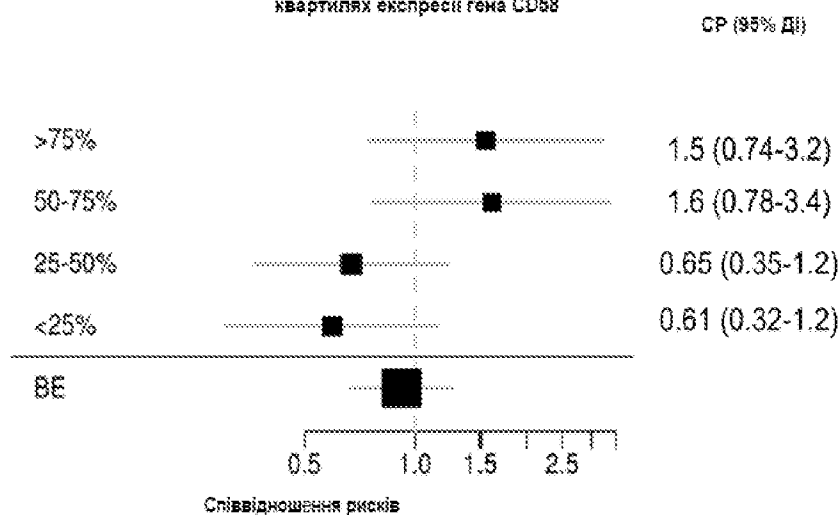
Фігура 9

КМ (PFS) в GOYA для
CD58 РНК секв
(медіанний зріз)

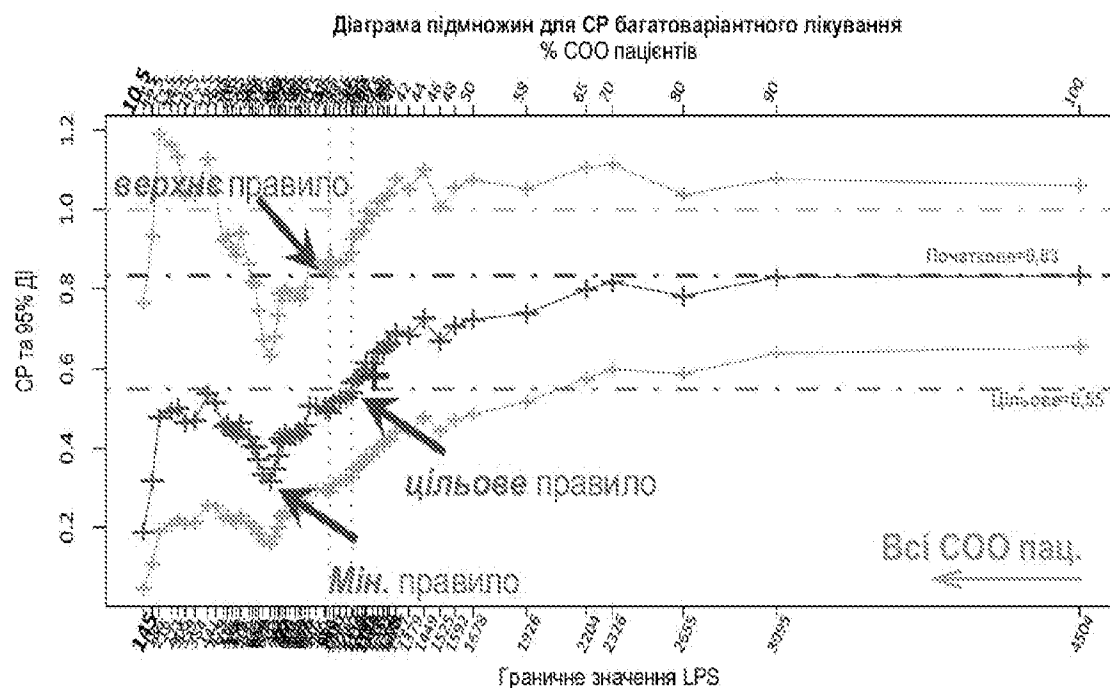


		PFS (дні)			
високий, Ритуксимаб	128	102	47	5	
високий, GA101	148	110	50	6	
низький, Ритуксимаб	143	95	38	5	
низький, GA101	133	100	40	5	
		Кількість під загрозою вибуття			

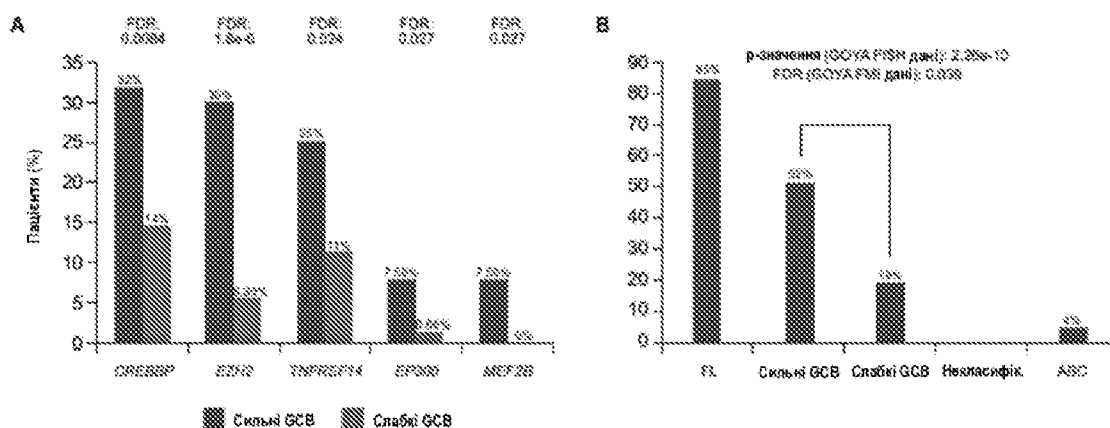
ФОРЕСТ-діаграма оцінки ефекту лікування (G відн. R) у
квартилях експресії гена CD58



Фігура 9 (продовження)



Фігура 10

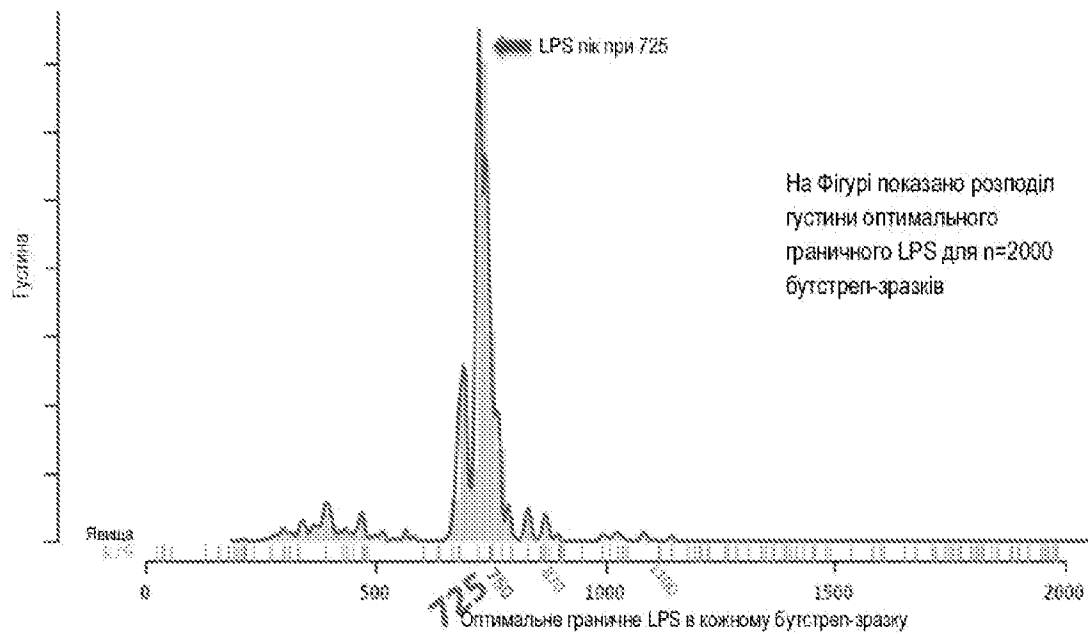


*GOYA Медичний фонд NGS дані DLBCL BCL2 FISH дані від GOYA (BCL2 транслокації, ідентифіковані за допомогою FISH розділеного на частини зонду [50% припинення збору даних]);

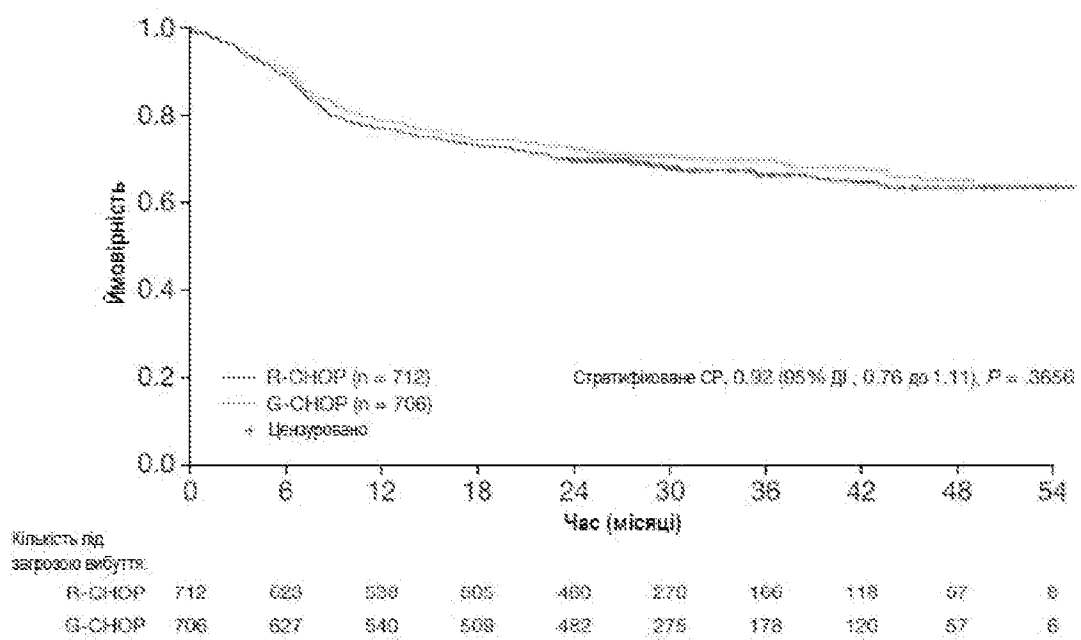
FL поширення з літератури; поширення для DLBCL 20%, DLBCL не сильних-GCB 11% та GCB 33%

ABC-активована B-клітина; FDR – рівень хибнопозитивних результатів; FISH – флуоресцентна гібридизація in situ; GCB – B-клітина зародкового центру; NGS – секвенування наступного покоління

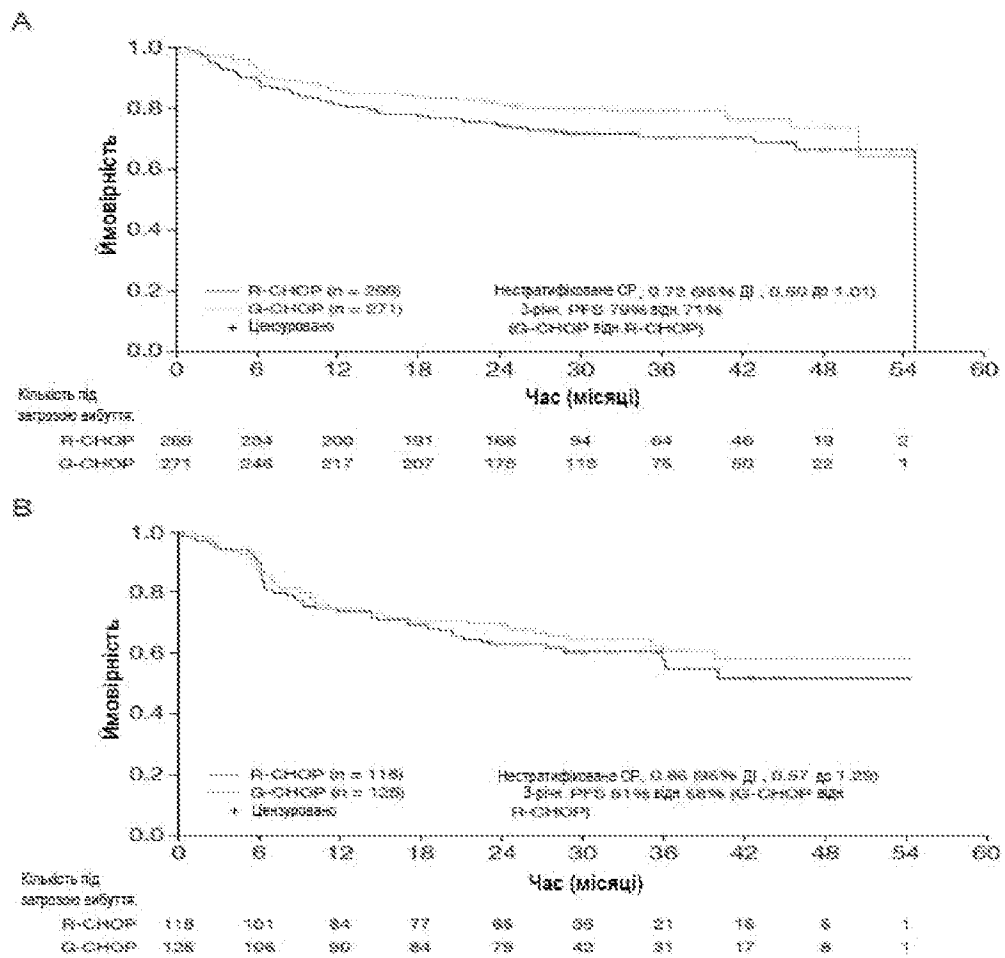
Фігура 11



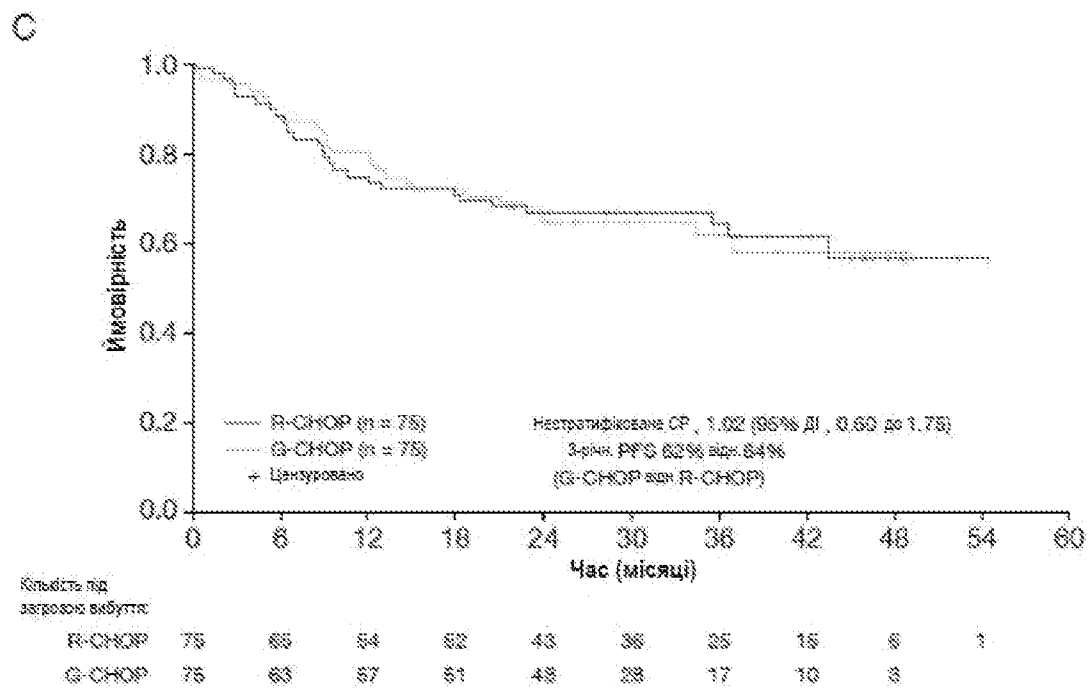
Фігура 12



Фігура 13



Фігура 14 (початок)



Фігура 14 (продовження)