



(51) МПК  
*C07K 16/28* (2006.01)  
*C07K 19/00* (2006.01)  
*A61K 35/17* (2015.01)  
*A61K 39/395* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ  
 (12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21) (22) Заявка: 2017133952, 30.03.2016

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

13.04.2015 US 62/146,825;

25.01.2016 US 62/286,473;

29.02.2016 US 62/301,177

(43) Дата публикации заявки: 13.05.2019 Бюл. № 14

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 13.11.2017

(86) Заявка РСТ:

IB 2016/051808 (30.03.2016)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2016/166630 (20.10.2016)

Адрес для переписки:

191036, Санкт-Петербург, а/я 24 "НЕВИНПАТ"

(71) Заявитель(и):

Пфайзер Инк. (US)

(72) Автор(ы):

КУО Трейси Чиа-Чиен (US),  
 ЧАПАРРО РИДЖЕРС Хавьер Фернандо (US),

САСУ Барбра Джонсон (US),

ГАЛЕТТО Роман (FR),

БОЛДАЖИПУР Бижан Андре (US),

СОММЕР Сезар Адольфо (US),

ВАН БЛЭРКОМ Томас Джон (US),

ПЕРТЕЛ Томас Чарльз (US),

РАДЖПАЛ Арвинд (US),

ДУШАТО Филипп (FR),

ЖУИЛЛЕРА Александр (FR),

ВАЛЬТОН Жюльен (FR)

(54) Химерные антигенные рецепторы, нацеленные на антиген созревания В-клеток

(57) Формула изобретения

1. Химерный антигенный рецептор (CAR), специфический в отношении антигена созревания В-клеток (BCMA), содержащий внеклеточный лиганд-связывающий домен, первый трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, где внеклеточный домен содержит одноцепочечный фрагмент Fv (scFv), содержащий вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую три CDR (участок, определяющий комплементарность) из области VH, содержащей последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 33, 72, 39, 76, 83, 92, 25 или 8; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую три CDR из области VL, приведенной в SEQ ID NO: 34, 73, 40, 77, 84, 93, 18 или 80.

2. BCMA-специфический CAR по п. 1, где область VH содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 33, 72, 39, 76, 83, 92, 25 или 8, или ее вариант с одной или несколькими консервативными аминокислотными заменами остатков, которые не находятся в пределах CDR, и/или область VL содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 34, 73, 40, 77, 84, 93, 18 или 80, или ее вариант с одной или несколькими аминокислотными заменами аминокислот, которые не находятся в пределах CDR.

3. BCMA-специфический CAR по п. 1 или п. 2, где область VH содержит CDR1 VH, содержащий аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 150, 151 или 152; CDR2 VH, содержащий аминокислотную последовательность, приведенную в

SEQ ID NO: 187 или 188; и CDR3 VH, содержащий аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 155; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую следующие CDR: CDR1 VL, содержащий аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 249; CDR2 VL, содержащий аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 221; и CDR3 VL, содержащий аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 225.

4. ВСМА-специфический CAR по п. 3, где область VH содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 72, и область VL содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 73.

5. ВСМА-специфический CAR по п. 1 или п. 2, где каждый CDR определен в соответствии с определением по Kabat, в соответствии с определением по Chothia, в соответствии с комбинацией определения по Kabat и определения по Chothia, в соответствии с определением AbM или в соответствии с контактным определением CDR.

6. ВСМА-специфический CAR по любому из пп. 1-5, где внутриклеточный сигнальный домен содержит сигнальный домен **CD3ζ**.

7. ВСМА-специфический CAR по любому из пп. 1-6, где внутриклеточный сигнальный домен содержит домен 4-1BB.

8. ВСМА-специфический CAR по любому из пп. 1-7, дополнительно содержащий второй внутриклеточный сигнальный домен.

9. ВСМА-специфический CAR по п. 8, где второй внутриклеточный сигнальный домен содержит домен 4-1BB.

10. ВСМА-специфический CAR по любому из пп. 1-9, дополнительно содержащий стеблевой домен между внутриклеточным лиганд-связывающим доменом и первым трансмембранным доменом.

11. ВСМА-специфический CAR по п. 10, где стеблевой домен выбран из группы, состоящей из: шарнирной области CD8α человека, шарнирной области IgG1 (иммуноглобулин G1) и шарнирной области FcγRIIIα (рецептор Fcγ IIIα).

12. ВСМА-специфический CAR по любому из пп. 1-11, дополнительно содержащий эпитоп CD20.

13. ВСМА-специфический CAR по п. 12, где эпитоп CD20 содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 397 или SEQ ID NO: 398.

14. ВСМА-специфический CAR по п. 13, содержащий аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 396.

15. ВСМА-специфический CAR по любому из пп. 1-14, где первый трансмембранный домен содержит трансмембранный домен цепи CD8α.

16. ВСМА-специфический CAR по любому из пп. 1-15, дополнительно содержащий другой внеклеточный лиганд-связывающий домен, который не является специфическим в отношении ВСМА.

17. ВСМА-специфический CAR по любому из пп. 1-16, где внеклеточный(ые) лиганд-связывающий(ие) домен(ы), первый трансмембранный домен и внутриклеточный(ые) сигнальный(ые) домен(ы) находятся на одном полипептиде.

18. ВСМА-специфический CAR по любому из пп. 1-9, дополнительно содержащий второй трансмембранный домен, где первый трансмембранный домен и внеклеточный (ые) лиганд-связывающий(ие) домен(ы) находятся на первом полипептиде, и где второй трансмембранный домен и внутриклеточный(ые) сигнальный(ые) домен(ы) находятся на втором полипептиде, где первый трансмембранный домен содержит трансмембранный домен из α-цепи высокоаффинного рецептора IgE (FcεRI) и второй трансмембранный домен содержит трансмембранный домен из γ- или β- цепи FcεRI.

19. ВСМА-специфический CAR по п. 18, дополнительно содержащий третий

полипептид, содержащий третий трансмембранный домен, слитый с внутриклеточным сигнальным доменом из костимулирующей молекулы, где третий трансмембранный домен содержит трансмембранный домен из  $\gamma$ - или  $\beta$ - цепи Fc $\epsilon$ RI.

20. Полинуклеотид, содержащий нуклеиновокислотную последовательность, кодирующую ВСМА-специфический CAR по любому из пп. 1-19.

21. Полинуклеотид по п. 20, кодирующий ВСМА-специфический CAR, кодируемый нуклеиновокислотной последовательностью вектора, имеющего в АТСС (Американская коллекция типовых культур) номер доступа РТА-122834.

22. Полинуклеотид по п. 20, содержащий нуклеиновокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 399.

23. Экспрессирующий вектор, содержащий полинуклеотид по любому из пп. 20-22.

24. Подвергнутая инженерии иммунная клетка, экспрессирующая на своей клеточной поверхностной мембране ВСМА-специфический CAR по любому из пп. 1-19.

25. Подвергнутая инженерии иммунная клетка по п. 24, дополнительно содержащая другой CAR, который не является специфическим в отношении ВСМА.

26. Подвергнутая инженерии иммунная клетка по п. 24 или 25, дополнительно содержащая полинуклеотид, кодирующий суицидальный полипептид.

27. Подвергнутая инженерии иммунная клетка по п. 26, где суицидальный полипептид представляет собой RQR8.

28. Подвергнутая инженерии иммунная клетка по любому из пп. 24-27, имеющая происхождение от воспалительного Т-лимфоцита, цитотоксического Т-лимфоцита, регуляторного Т-лимфоцита или хелперного Т-лимфоцита.

29. Подвергнутая инженерии иммунная клетка по любому из пп. 24-28, дополнительно содержащая нарушение одного или более эндогенных генов, где эндогенный ген кодирует TCR $\alpha$  (Т-клеточный рецептор  $\alpha$ ), TCR $\beta$ , CD52, рецептор глюкокортикоидов (GR), дезоксицитидинкиназу (dCK) или белок контрольных точек иммунного ответа, например такой как белок программируемой клеточной гибели-1 (PD-1).

30. Подвергнутая инженерии иммунная клетка по любому из пп. 24-29, где иммунная клетка получена от здорового донора.

31. Подвергнутая инженерии иммунная клетка по любому из пп. 24-30, где иммунная клетка получена от пациента.

32. Подвергнутая инженерии иммунная клетка по любому из пп. 24-31 для применения в качестве лекарственного средства.

33. Подвергнутая инженерии иммунная клетка по п. 32, где лекарственное средство предназначено для применения в лечении рака, связанного с В-клетками, выбранного из группы, состоящей из множественной миеломы, злокачественной неоплазии плазматических клеток, лимфомы Ходжкина, нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием, болезни Калера и миеломатоза, плазмноклеточного лейкоза, плазмоцитомы, В-клеточного пролимфоцитарного лейкоза, волосатоклеточного лейкоза, В-клеточной неходжкинской лимфомы (NHL), острого миелоидного лейкоза (AML), хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), острого лимфоцитарного лейкоза (ALL), хронического миелоидного лейкоза (CML), фолликулярной лимфомы, лимфомы Беркитта, лимфомы маргинальной зоны, лимфомы из клеток зоны мантии, крупноклеточной лимфомы, В-лимфобластной лимфомы из клеток-предшественников, миелолейкоза, макроглобулинемии Вальденстрема, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лимфомы маргинальной зоны, лимфомы из лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками, мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы, лимфомы из клеток зоны мантии, лимфомы Беркитта, первичной медиастинальной (тимической) В-крупноклеточной лимфомы, лимфоплазмноклеточной лимфомы, макроглобулинемии Вальденстрема, узловой В-

клеточной лимфомы из клеток маргинальной зоны, лимфомы маргинальной зоны селезенки, внутрисосудистой В-крупноклеточной лимфомы, первичной выпотной лимфомы, лимфогранулематоза, В-клеточной лимфомы с большим количеством Т-клеток/гистиоцитов, первичной лимфомы центральной нервной системы, первичной кожной диффузной В-крупноклеточной лимфомы (тип нижних конечностей), EBV (вирус Эпштейна-Барр)-положительной диффузной В-крупноклеточной лимфомы пожилых, диффузной В-крупноклеточной лимфомы, ассоциированной с воспалением, внутрисосудистой В-крупноклеточной лимфомы, ALK (киназа анапластической лимфомы)-положительной В-крупноклеточной лимфомы, плазмобластной лимфомы, В-крупноклеточной лимфомы, возникающей на фоне HHV8 (вирус герпеса-8 человека) -ассоциированной мультицентрической болезни Кастлемана, неклассифицированной В-клеточной лимфомы с признаками, промежуточными между диффузной В-крупноклеточной лимфомой и лимфомой Беркитта, неклассифицированной В-клеточной лимфомы с признаками, промежуточными между диффузной В-крупноклеточной лимфомой и классической лимфомой Ходжкина, и других лимфом, связанных с В-клетками.

34. Способ инженерии иммунной клетки, включающий:

- а) предоставление иммунной клетки; и
- б) экспрессию на поверхности клетки по меньшей мере одного ВСМА-специфического CAR по любому из пп. 1-19.

35. Способ инженерии иммунной клетки по п. 34, включающий:

- а) предоставление иммунной клетки;
- б) внедрение в клетку по меньшей мере одного полинуклеотида, кодирующего указанный ВСМА-специфический CAR; и
- в) экспрессию указанного полинуклеотида в клетке.

36. Способ инженерии иммунной клетки по п. 34, включающий:

- а) предоставление иммунной клетки;
- б) внедрение в клетку по меньшей мере одного полинуклеотида, кодирующего указанный ВСМА-специфический CAR; и
- в) внедрение по меньшей мере одного иного CAR, который не является специфическим в отношении ВСМА.

37. Способ лечения субъекта, которому это необходимо, включающий:

- а) предоставление иммунной клетки, экспрессирующей на поверхности ВСМА-специфический CAR по любому из пп. 1-19; и
- б) введение указанных иммунных клеток указанному пациенту.

38. Фармацевтическая композиция, содержащая подвергнутую инженерии иммунную клетку по любому из пп. 24-31.

39. Способ лечения состояния, ассоциированного со злокачественными клетками, экспрессирующими ВСМА, у субъекта, включающий введение субъекту, которому это необходимо, эффективного количества фармацевтической композиции по п. 38.

40. Способ по п. 39, где состояние представляет собой рак.

41. Способ по п. 40, где рак представляет собой рак, связанный с В-клетками, выбранный из группы, состоящей из множественной миеломы, злокачественной неоплазии плазматических клеток, лимфомы Ходжкина, нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоцитарным преобладанием, болезни Калера и миеломатоза, плазмоклеточного лейкоза, плазмцитомы, В-клеточного пролимфоцитарного лейкоза, волосатоклеточного лейкоза, В-клеточной неходжкинской лимфомы (NHL), острого миелоидного лейкоза (AML), хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), острого лимфоцитарного лейкоза (ALL), хронического миелоидного лейкоза (CML), фолликулярной лимфомы, лимфомы Беркитта, лимфомы маргинальной зоны, лимфомы

из клеток зоны мантии, крупноклеточной лимфомы, В-лимфобластной лимфомы из клеток-предшественников, миелолейкоза, макроглобулинемии Вальденстрема, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лимфомы маргинальной зоны, лимфомы из лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками, мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы, лимфомы из клеток зоны мантии, лимфомы Беркитта, первичной медиастинальной (тимической) В-крупноклеточной лимфомы, лимфоплазмочитарной лимфомы, макроглобулинемии Вальденстрема, узловой В-клеточной лимфомы из клеток маргинальной зоны, лимфомы маргинальной зоны селезенки, внутрисосудистой В-крупноклеточной лимфомы, первичной выпотной лимфомы, лимфогранулематоза, В-клеточной лимфомы с большим количеством Т-клеток/гистиоцитов, первичной лимфомы центральной нервной системы, первичной кожной диффузной В-крупноклеточной лимфомы (тип нижних конечностей), EBV-положительной диффузной В-крупноклеточной лимфомы пожилых, диффузной В-крупноклеточной лимфомы, ассоциированной с воспалением, внутрисосудистой В-крупноклеточной лимфомы, ALK-положительной В-крупноклеточной лимфомы, плазмобластной лимфомы, В-крупноклеточной лимфомы, возникающей на фоне HHV8-ассоциированной мультицентрической болезни Кастлемана, неклассифицированной В-клеточной лимфомы с признаками, промежуточными между диффузной В-крупноклеточной лимфомой и лимфомой Беркитта, неклассифицированной В-клеточной лимфомы с признаками, промежуточными между диффузной В-крупноклеточной лимфомой и классической лимфомой Ходжкина, и других лимфом, связанных с В-клетками.

42. Способ подавления роста и прогрессирования опухоли у субъекта, имеющего злокачественные клетки, экспрессирующие ВСМА, включающий введение субъекту, которому это необходимо, эффективного количества фармацевтической композиции по п. 38.

43. Способ подавления у субъекта метастазирования злокачественных клеток, экспрессирующих ВСМА, включающий введение субъекту, которому это необходимо, эффективного количества фармацевтической композиции по п. 38.

44. Способ индуцирования регрессии опухоли у субъекта, имеющего злокачественные клетки, экспрессирующие ВСМА, включающий введение субъекту, которому это необходимо, эффективного количества фармацевтической композиции по п. 38.

45. Способ по любому из пп. 39-44, дополнительно включающий введение субъекту лечения в виде нуклеозидного аналога.

46. Способ по п. 45, где лечение в виде нуклеозидного аналога представляет собой флударабин или клофарабин.