

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **016083**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2012.02.28

(21) Номер заявки
200800560

(22) Дата подачи заявки
2006.08.09

(51) Int. Cl. *A61K 38/17* (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ НЕХОДЖКИНСКОЙ ЛИМФОМЫ С ПОМОЩЬЮ СЛИТОЙ МОЛЕКУЛЫ TACI-Ig

(31) 60/706,912

(32) 2005.08.09

(33) US

(43) 2008.06.30

(86) PCT/US2006/031277

(87) WO 2007/019575 2007.02.15

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЗАЙМОДЖИНЕТИКС, ИНК. (US);
АРЕС ТРЕЙДИНГ С.А. (СН); МЭЙО
ФАУНДЕЙШН ФОР МЕДИКАЛ
ЭДЬЮКЕЙШН ЭНД РИСЕРЧ (US)

(72) Изобретатель:
Броли Эрве (FR), Сиверс Эрик (US),
Итье Арно (СН), Басби Шарон Дж.,
Анселл Стефен М., Эрстрем Ян,
Нестеров Иван (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) EP-A-1666052
WO-A2-02094852
WO-A-0040714
WO-A-0181417

GROSS J.A. ET AL.: "TACI-IG Neutralizes Molecules Critical for B Cell Development and Autoimmune Disease: Impaired B Cell Maturation in Mice Lacking BLYsS". IMMUNITY, CELL PRESS, US, vol. 15, August 2001 (2001-08), pages 289-302, XP003008630, ISSN: 1074-7613, cited in the application, abstract

GROOM J. ET AL.: "Association of BAFF/ Blys overexpression and altered B cell differentiation with Sjörger's syndrome". JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION, NEW YORK, NY, US, vol. 109, no. 1, 2002, pages 59-68, XP002351435, ISSN: 0021-9738, cited in the application, abstract

(57) Настоящее изобретение предоставляет способ лечения В неходжкинской лимфомы, включающий введение пациенту, нуждающемуся в лечении, слитой молекулы TACI-Ig в количестве, достаточном для супрессии индуцирующих пролиферацию функций BlyS и APRIL.

B1

016083

016083 B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Заявка на данное изобретение претендует на приоритет по предварительной заявке США № 60/706912, поданной 9 августа 2005 г., содержание которой приведено в описании в качестве ссылки.

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к способам и композициям для лечения заболеваний и расстройств, включая гиперпролиферативные расстройства, рак, воспалительные заболевания или расстройства иммунной системы, включающим в себя введение слитого белка TACI-Ig, который блокирует функции факторов роста семейства ФНО.

Уровень техники

Семейство лиганда/рецептора BLYS.

Установлено, что три рецептора, TACI (трансмембранный активатор или кальциймодулирующий посредник лиганда циклофилина), BCMA (антиген созревания В-клеток) и BAFF-R (рецептор фактора активации В-клеток, относящийся к семейству ФНО), обладают уникальным средством связывания двух факторов роста (BLYS (стимулятор В-лимфоцитов) и APRIL (лиганд, индуцирующий пролиферацию) (Marsters et al. *Curr Biol.* 2000; 10(13): 785-788; Thompson et al. *Science* 2001; 293: 2108-2111). TACI и BCMA связывают как BLYS, так и APRIL, в то время как BAFF-R, по-видимому, способен связывать с высоким сродством только BLYS (Marsters et al. *Curr Biol.* 2000; 10(13): 785-788; Thompson et al. *Science.* 2001; 293: 2108-2111). Как результат, BLYS способен передавать сигналы посредством всех трех рецепторов, тогда как APRIL, по-видимому, способен передавать сигналы только посредством TACI и BCMA. Кроме того, циркулирующие гетеротримерные комплексы BLYS и APRIL (группировки трех белков, содержащие одну или две копии каждого из BLYS и APRIL) были идентифицированы в образцах сыворотки, взятых от пациентов с системными иммунными ревматическими заболеваниями, и было показано, что они индуцируют пролиферацию В-клеток *in vitro* (Roschke et al. *J. Immunol.* 2002; 169: 4314-4321). Среди белков, слитых с Ig, для всех трех рецепторов только TACI-Fc5 был способен блокировать биологическую активность гетеротримерных комплексов (Roschke et al. *J. Immunol.* 2002; 169: 4314-4321).

BLYS и APRIL являются мощными стимуляторами созревания, пролиферации и выживания В-клеток (Gross et al. *Nature.* 2000; 404: 995-999. Gross et al. *Immunity.* 2001; 15(2): 289-302. Groom et al. *J. Clin. Invest.* 2002; 109(1): 59-68). BLYS и APRIL могут быть необходимы для персистенции аутоиммунных заболеваний, особенно тех, в которых участвуют В-клетки. У трансгенных мышей, созданных для экспрессии высоких уровней BLYS, развиваются иммунные клеточные расстройства и появляются симптомы, подобные наблюдаемым у больных системной красной волчанкой (SLE) (Cheson et al. *Revised guidelines for diagnosis and treatment. Blood.* 1996; 87: 4990-4997. Cheema et al. *Arthritis Rheum.* 2001; 44(6): 1313-1319). Подобным образом, повышенные уровни BLYS/APRIL находили в образцах сыворотки, взятых от пациентов с SLE и других пациентов с различными аутоиммунными заболеваниями, такими как ревматоидный артрит (RA) (Roschke et al. *J. Immunol.* 2002; 169:4314-4321; Mariette X., *Ann Rheum Dis.* 2003; 62(2): 168-171; Hahne et al. *J. Exp. Med.* 1998; 188(6): 1185-1190), расширяя связь BLYS и/или APRIL и заболеваний, опосредованных В-клетками, от животных моделей до человека.

В-клеточные опухоли.

В-клеточные опухоли представляют собой гетерогенную группу лимфопролиферативных онкологических заболеваний с различной структурой клинических проявлений и реакций на терапию. Полный прогноз может быть рассчитан с допустимой точностью путем определения гистологического типа опухоли, стадии заболевания и ранее полученного лечения. Клинические результаты в основном ассоциируются с общей степенью злокачественности заболевания. В-клеточные опухоли включают в себя спектр заболеваний от неактивных хронических лимфоцитарных лейкозов, которые часто в течение нескольких лет развиваются до очень агрессивных лимфом с намного более короткой динамикой развития. Хотя в конечном счете и неизлечимые, неактивные В-клеточные опухоли обычно ассоциируются с относительно хорошим прогнозом, со средней выживаемостью в пределах 10 лет.

Лечение более агрессивных типов В-клеточных опухолей может осуществляться с помощью интенсивных режимов комбинированной химиотерапии, и приблизительно половина пациентов выживает в течение не менее 5 лет. Несмотря на то что добавление к терапевтическим режимам ритуксимабаTM в основном улучшало клинические результаты, В-клеточные опухоли часто рецидивируют в течение первых двух лет после начального лечения. Ремиссия часто достигается при повторном лечении, если гистологически сохраняется низкая степень злокачественности заболевания. К сожалению, пациенты, у которых имеется или развилась агрессивная форма В-клеточных опухолей, имеют худший прогноз и составляют нерешенную медицинскую проблему. Таким образом, существует давно ощущаемая потребность в разработке более эффективных способов лечения В-клеточных опухолей, включая ходжкинскую и неходжкинскую лимфомы.

Сущность изобретения

Изобретение связано со способами лечения неходжкинской лимфомы. Способы согласно изобретению включают в себя введение пациенту композиции, содержащей константный домен человеческого иммуноглобулина и внеклеточный домен TACI или его фрагмент, который связывает BLYS и/или APRIL.

В одном варианте осуществления изобретение связано со способами лечения неходжкинской лимфомы с помощью слитой молекулы TACI-Ig, включающей в себя внеклеточный домен TACI или любой его фрагмент, который сохраняет способность связывать BLYS и/или APRIL.

В другом варианте осуществления изобретение связано со способами лечения неходжкинской лимфомы, включающими в себя введение пациенту слитой молекулы, содержащей константную цепь человеческого иммуноглобулина и внеклеточный домен TACI или фрагмент внеклеточного домена TACI, который связывает BLYS и/или APRIL. Один предпочтительный фрагмент внеклеточного домена TACI содержит один или два мотива повторяющегося цистеина. Другим предпочтительным фрагментом является фрагмент, включающий в себя аминокислоты 30-110 внеклеточного домена TACI. Еще одним предпочтительным фрагментом является фрагмент, включающий в себя аминокислоты 1-154 внеклеточного домена TACI (SEQ ID NO: 1).

В другом варианте осуществления изобретение связано со способами лечения неходжкинской лимфомы путем введения пациенту композиции, включающей в себя слитый полипептид, TACI-Fc5, содержащий константный домен человеческого иммуноглобулина Fc5, имеющий последовательность, представленную как SEQ ID NO: 2, и внеклеточный домен TACI, имеющий последовательность, представленную как SEQ ID NO: 1.

В еще одном варианте осуществления изобретение связано со способами лечения неходжкинской лимфомы путем введения пациенту композиции, включающей в себя слитый полипептид, содержащий константный домен человеческого иммуноглобулина с последовательностью, представленной как SEQ ID NO: 2, и полипептид, который связывает BLYS и/или APRIL и который не менее чем на 50, предпочтительно на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или на 99% идентичен SEQ ID NO: 1.

Другие В-клеточные злокачественные образования, которые поддаются лечению с помощью способов согласно изобретению путем введения пациенту слитого полипептида, включающего в себя константную цепь человеческого иммуноглобулина и внеклеточный домен TACI или фрагмент внеклеточного домена TACI, который связывает BLYS и/или APRIL. К таким В-клеточным злокачественным образованиям относятся, не ограничиваясь ими, острый лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелоцитарный лейкоз, миелобластный лейкоз, промиелоцитарный лейкоз, миеломоноцитарный лейкоз, моноцитарная эритролейкемия, хронический лейкоз, хронический миелоцитарный (гранулоцитарный) лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, истинная полицитемия, болезнь Ходжкина, множественная миелома и макроглобулинемия Вальденстрема.

В одном предпочтительном варианте осуществления способы согласно изобретению включают в себя введение пациенту с неходжкинской лимфомой слитой молекулы TACI-Ig в количестве от 0,01 до 10 мг на 1 кг веса тела пациента. Слитую молекулу TACI-Ig можно вводить неоднократно с заданными интервалами. Предпочтительно, чтобы молекулу вводили по меньшей мере 5 раз в течение 4-недельного интервала. За этим начальным лечением слитым полипептидом TACI-Ig может следовать еженедельное введение полипептида по меньшей мере в течение еще 2 дополнительных недель, и более предпочтительно полипептид вводят еженедельно в течение дополнительных 2-30 недель.

В соответствии со способами согласно изобретению слитый полипептид TACI-Ig можно вводить пациенту с неходжкинской лимфомой подкожно, перорально или внутривенно и, необязательно, в комбинации с другими лекарственными средствами. К таким лекарственным средствам относятся, не ограничиваясь ими, бифосфонат, эритропоэтин, факторы роста гранулоцитов, колониестимулирующий фактор гранулоцитов, лекарственные средства для устранения боли, мелфалан, винкристин, доксорубин, талидомид и аналоги нуклеозидов.

В одном варианте осуществления изобретения TACI-Ig вводят в комбинации с бортезомибом. TACI-Ig можно дозировать, как описано выше, а бортезомиб вводят в дозе приблизительно 1,3 мг/м² дважды в неделю в течение 2 недель, с последующим свободным от приема 10-дневным периодом. Это представляет собой один цикл лечения. Необязательно, бортезомиб можно вводить внутривенно. Мониторинг реакции на лечение проводят, как описано выше для TACI-Ig в отдельности, и могут назначаться дополнительные циклы лечения TACI-Ig и/или бортезомибом. TACI-Ig можно вводить в дозе, как описано выше, или в более низкой дозе в комбинации с бортезомибом в дозе, описанной здесь, или с бортезомибом в более низкой дозе. Дозы TACI-Ig и бортезомиба можно вводить одновременно или чередуя с введением TACI-Ig с последующим циклом бортезомиба или циклом бортезомиба с последующим циклом TACI-Ig. Это введение можно повторить.

TACI-Ig можно вводить пациентам, у которых развилась резистенция или которые не отвечают на другие способы лечения, включая, не ограничиваясь ими, лечение бортезомибом.

Эти и другие варианты осуществления настоящего изобретения описаны более подробно ниже в этом документе.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1. Алгоритм принятия решения о повышении дозы при лечении TACI-Fc5.

Фиг. 2. Диаграмма областей тела пациента, которые подходят для подкожных инъекций молекулы TACI-Ig.

Фиг. 3. SEQ ID NO: 1.

Фиг. 4 SEQ ID NO: 2.

Подробное описание изобретения

С учетом того что настоящее изобретение можно осуществить в различных формах, ниже приведено описание нескольких вариантов осуществления, при этом, однако, предполагается, что настоящее раскрытие необходимо рассматривать лишь как примеры осуществления изобретения, не предназначенные для ограничения изобретения специфичными иллюстрированными вариантами осуществления. Заголовки предоставлены только для удобства и не должны ни в коем случае рассматриваться как ограничение объема изобретения. Варианты осуществления, иллюстрированные под любым заголовком, можно комбинировать с вариантами осуществления, иллюстрированными под другим заголовком.

Используемые числовые значения в различных диапазонах, определяемых в данном изобретении, если не указано иначе, указаны как приближенные, как если бы и минимальным и максимальным значениям в пределах заявленных диапазонов предшествовало бы слово "приблизительно". Таким образом, можно использовать небольшие вариации выше и ниже заявленных диапазонов для достижения в основном таких же результатов, как и значения в пределах указанных диапазонов. Используемые здесь термины "около" и "приблизительно" в отношении числовых значений соответствуют их обычным значениям для специалистов в области фармацевтических наук или в связанных с ней областях. Кроме того, под указанными диапазонами следует понимать непрерывные диапазоны, включающие каждое значение между указанными минимальным и максимальным значениями, а также любые диапазоны, которые могут быть заключены в пределах указанных диапазонов.

Настоящее изобретение относится к способам уменьшения патологической пролиферации гемопоэтических клеток у пациентов с помощью ингибирования взаимодействия BlyS и/или APRIL с их рецепторами. А именно, в указанных способах применяется ингибитор, включающий в себя:

1) полипептид, который содержит домен, по меньшей мере частично идентичный внеклеточному домену TACI или его фрагменту, и связывает BlyS и/или APRIL и

2) константную цепь человеческого иммуноглобулина. В способах согласно изобретению применяется слитая молекула, содержащая константную цепь человеческого иммуноглобулина и любой полипептид с последовательностью, идентичной не менее чем на 50% внеклеточному домену TACI, который может связывать лиганды BlyS и/или APRIL и который предпочтительно на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 99% идентичен внеклеточному домену TACI. В патентах США № 5969102, 6316222 и 6500428 и заявках на патент США № 09/569245 и 09/627206 (которые включены в настоящее описание в виде ссылки в полном объеме) раскрыты последовательности внеклеточного домена TACI, а также специфичных фрагментов внеклеточного домена TACI, которые взаимодействуют с лигандами TACI, включая BlyS и APRIL. Один предпочтительный фрагмент внеклеточного домена TACI включает в себя один или два мотива из повторяющегося цистеина. Другим предпочтительным фрагментом является фрагмент, включающий в себя аминокислоты 30-110 внеклеточного домена TACI. Еще одним предпочтительным фрагментом является фрагмент, включающий в себя аминокислоты 1-154 внеклеточного домена TACI (SEQ ID NO: 1).

К другим слитым молекулам, используемым в способах согласно изобретению, относятся слитый полипептид из константной цепи человеческого иммуноглобулина и всего внеклеточного домена TACI или его ортолога или слитый полипептид из константной цепи человеческого иммуноглобулина и любого фрагмента внеклеточного домена TACI, который способен связывать лиганды APRIL и BlyS. Любая из слитых молекул, применяемых в способах согласно изобретению, может называться слитой молекулой TACI-Ig.

TACI-Fc5 является одной из слитых молекул TACI-Ig, полезных для способов согласно изобретению. TACI-Fc5 является рекомбинантным слитым полипептидом, включающим в себя внеклеточную, связывающую лиганд часть рецептора TACI приблизительно от аминокислоты 1 приблизительно до аминокислоты 154 (SEQ ID NO: 1) и модифицированную часть Fc человеческого IgG, Fc5 (SEQ ID NO: 2). Другие молекулы TACI-Ig, используемые в способах согласно изобретению, включают в себя слитую молекулу, содержащую полипептид с SEQ ID NO: 2 и полипептид, который может связывать BlyS и который по меньшей мере на 50, предпочтительно на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или на 99% идентичен SEQ ID NO: 1.

Варианты осуществления согласно изобретению включают в себя способы применения слитой молекулы TACI-Ig для лечения неходжкинской лимфомы. К другим гематологическим злокачественным образованиям, лечение которых может осуществляться с применением способов согласно изобретению, относятся лейкозы (острый лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелоцитарный лейкоз, миелобластный лейкоз, промиелоцитарный лейкоз, миеломоноцитарный лейкоз, моноцитарная эритролейкемия, хронический лейкоз, хроническая миелоцитарная (гранулоцитарная) лейкемия, хронический лим-

фоцитарный лейкоз, истинная полицитемия), лимфомы (болезнь Ходжкина, множественная миелома, макроглобулинемия Вальденстрема и болезнь тяжелых цепей), аутоиммунные заболевания, такие как ревматоидный артрит и системная красная волчанка, или для уменьшения числа циркулирующих зрелых В-клеток и клеток, секретирующих иммуноглобулины, и растворимых иммуноглобулинов, ассоциированы с такими заболеваниями.

Варианты осуществления также включают в себя способы лечения путем введения пациенту слитой молекулы, включающей в себя константный домен человеческого иммуноглобулина и полипептид, содержащий любой фрагмент внеклеточного домена TACI, который может связывать BlyS и/или APRIL.

Слитую молекулу TACI-Ig можно вводить пациенту перорально, внутривенно или подкожно.

Композиции TACI-Ig, используемые в способах согласно изобретению, можно изготовить и хранить в виде замороженного, стерильного, изотонического раствора. Такие композиции могут содержать и другие активные компоненты и наполнители, такие, например, как хлорид натрия, фосфатный буфер и гидроокись натрия или о-фосфорную кислоту (pH 6,0). Композиции TACI-Ig можно вводить пациенту в комбинации с другими лекарственными средствами. К таким лекарственным средствам относятся, не ограничиваясь ими, бифосфонат, эритропоэтин, факторы роста гранулоцитов, колониестимулирующий фактор гранулоцитов и лекарственные средства для устранения боли. Способы согласно изобретению можно применять в комбинации с другими способами лечения В-клеточных опухолей. К таким другим способам лечения относятся, не ограничиваясь ими, химиотерапия, лучевая терапия и генная терапия. Композиции TACI-Ig можно вводить до, одновременно или более предпочтительно после других способов лечения.

Показано, что TACI-Fc5 ингибирует BlyS-опосредованную активацию пролиферации В-клеток *in vitro*. Лечение мышей TACI-Fc5 приводит к частичному блокированию развития В-клеток, которое оказывает минимальный эффект на предшественники В-клеток в костном мозге и на другие линии клеток, включая Т-клетки, моноциты и нейтрофилы периферической крови. Трансгенные мыши, созданные для повышенной экспрессии растворимой формы рецептора TACI в крови, продуцируют меньше зрелых В-клеток и имеют меньшие уровни циркулирующих антител. Трансгенные мыши mTACI-Fc5 имеют нормальное количество клеток в тимусе, костном мозге и мезентериальных лимфатических узлах. Не наблюдалось никаких значимых различий в популяциях Т-клеток в тимусе, лимфатических узлах и селезенке (Gross et al. *Immunity*. 2001; 15(2): 289-302).

Далее, TACI-Ig может ингибировать антиген-специфическую продукцию антител при иммунном ответе у мышей при введении либо во время первичного ответа, либо во время вторичного ответа на антиген. В этих исследованиях не наблюдали никаких эффектов иммунизации антигеном *ex vivo* на реакцию Т-клеток. В животной модели системной красной волчанки лечение слитыми белками TACI-Ig было эффективным в ограничении начала и прогрессии заболевания (Gross et al. *Nature*. 2000; 404: 995-999). Подобным образом, в мышинной модели коллаген-индуцированного артрита TACI-Ig был способен ингибировать развитие коллаген-специфических антител и снижать как частоту развития воспаления, так и скорость развития заболевания (Gross et al. *Immunity*. 2001; 15(2): 289-302).

Композицию, содержащую слитую молекулу TACI-Ig, можно вводить пациенту неоднократно в течение 4-недельного периода. Например, пациент может получать пять подкожных инъекций молекулы TACI-Ig в течение этого периода в режиме, раскрытом в табл. 1. После 4-недельного периода лечения следует 4-недельный период последующего врачебного наблюдения (табл. 1). В примере 3 предоставлены другие детали этого протокола.

Таблица 1

Режим лечения слитой молекулой TACI-Ig

	скрининг	Дни введения (± 1 день)					Дни последующего наблюдения (± 1 день)			
		День 1	День 7	День 14	День 21	День 28	День 35	День 42	День 49	День 56
Действие										
ICF/Дем/ история заболевания/ Prgg	×									
Вес/рост		×								×
Промежуточная история/PE	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
Жизненно важные функции организма ¹	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
Гематология	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
Химический анализ сыворотки	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
Панель коагуляции		×		×			×			×
Поточная цитометрия	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
Иммуноглобулины	×	×		×		×		×		×
Исследование мочи	×									×
Восточная объединенная группа онкологов	×									×
Повторное определение стадии опухоли ²	×									×
РК ³		×	×	×		×		×		
Биопсия опухоли ⁴	×									×
Анти-TACI-антитела ⁷		×								×
PD ⁵	×	×	×	×		×		×		×
Нежелательные явления и сопутствующие лекарственные средства и Procs ⁶	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×

¹ Показатели жизненно важных функций (VS) будут измеряться перед введением каждой дозы TACI-Fc5. VS после введения первой дозы TACI-Fc5 будут измеряться через 1, 2, 4 и 8 ч. Все другие последующие дозы будут вводиться через 1 и 2 ч.

² Скрининг компьютерных томограмм и позитронно-эмиссионных томограмм выполняли не более чем за 21 день до лечения; повторные исследования в течение 5 дней после 56 дня. См. Руководство по проведению исследования для определения опухолеспецифических индикаторов тяжести заболевания и оценки костного мозга (если показано).

³ День 1 - до введения, в 2, 4 и 8 ч, затем в 24 ч (день 2), 48 ч (день 3), 72 ч (день 4), 168 ч (день 7), 336 ч (день 14), 672 ч (день 28) и 1008 ч (день 42) ч. Значения перед вторым введением (168 ч, день 7), третьим введением (336 ч, день 14) и пятым введением (672 ч, день 28) преднамеренно соответствуют минимальным концентрациям.

⁴ В случае возможности и необходимости получения с точки зрения исследователя. В Руководстве по проведению исследования изложен способ забора ткани и процедуры исследования.

⁵ В Руководстве по проведению исследования изложена совокупность фармакодинамических маркеров дополнительного исследования: сывороточные уровни свободных APRIL и BlyS и комплекса BlyS/TACI-Fc5.

⁶ У субъектов будут отслеживать восстановление обоих классов лимфоцитов и иммуноглобулинов либо до исходного уровня до лечения, либо до абсолютного количества лимфоцитов $>800/\text{мм}^3$, IgG >400 мг/дл, IgA >65 мг/дл и IgM >40 мг/дл. Во время периодов пролонгированного отслеживания иммунологического восстановления будут регистрировать заболеваемость, тип и тяжесть инфекций.

⁷ Анти-TACI-антитела также будут накапливаться в день 85 у пациентов, не включенных в добавочное исследование.

Пациентам, у которых обнаруживается улучшение или, по меньшей мере, стабилизация состояния, можно проводить лечение слитой молекулой TACI-Ig в течение дополнительного периода. Например, таким пациентам можно вводить недельную дозу слитой молекулы TACI-Ig в течение дополнительных 2-30 недель. В табл. 2 представлен примерный пролонгированный режим введения молекулы TACI-Ig пациентам.

Таблица 2
Режим пролонгированного лечения молекулой TACI-Ig
Часть 1

Действие	Неделя												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Квалифицированное согласие/ тест на беременность	×												
Введение TACI		×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
Вес/рост	×												
Промежуточная история ¹	×		×		×		×		×		×		×
PE w/VS	×		×		×		×		×		×		×
Гематология	×		×		×		×		×		×		×
Химический анализ сыворотки	×				×				×				×
Панель коагуляции	×				×				×				×
Поточная цитометрия	×				×				×				×
Иммуноглобулины	×				×				×				×
Исследование мочи	×												
Восточная объединенная группа онкологов	×												
Повторное определение стадии опухоли ²	×												×
РК	×				×				×				×
Анти-TACI-антитело	×												×
PD ³	×				×				×				×
Нежелательные явления и сопутствующие лекарственные средства	×	проводится в настоящее время											
Объем крови за визит	×				×				×				×

Часть 2

Действие	Неделя												
	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	Неделя последнего визита 28
Введение TAC1	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
Вес												x	
Промежуточная история ¹		x		x		x		x		x		x	
PE w/VS		x		x		x		x		x		x	
Гематология		x		x		x		x		x		x	
Химический анализ сыворотки				x				x				x	
Панель коагуляции				x				x				x	
Поточная цитометрия				x				x				x	x ⁴
Иммуноглобулины				x				x				x	x ⁴
Восточная объединенная группа онкологов												x	
Исследование мочи												x	
Повторное определение стадии опухоли ²												x	
ПК				x				x				x	
Анти-TAC1-антитело												x	
PD ³				x				x				x	
Нежелательные явления и сопутствующие лекарственные средства	проводится в настоящее время												
Объем крови за визит				x				x				x	

¹ Все клинические осмотры можно проводить каждые ± 3 дня.

² Повторные сканограммы выполняют на 12-й неделе и затем приблизительно на 24-й неделе или во время прекращения лечения, независимо от того, что является первым. См. Руководство по проведению исследования для определения опухолеспецифических индикаторов тяжести заболевания и оценки костного мозга (если показано).

³ В Руководстве по проведению исследования изложена совокупность фармакодинамических маркеров дополнительного исследования: сывороточные уровни свободных APRIL и BlyS и комплекса BlyS/TAC1-Fc5.

⁴ Субъекты, у которых наблюдалось восстановление обоих классов лимфоцитов и иммуноглобулинов либо до исходных уровней до лечения, либо до абсолютного количества лимфоцитов $>800/\text{мм}^3$, IgG >400 мг/дл, IgA >65 мг/дл и IgM >40 мг/дл, формально исключали из исследования по завершении 28-дневного срока наблюдения безопасности после последней дозы TAC1-Fc5. У субъектов, у которых не удалось достичь этих уровней, будут ежемесячно производить полные анализы крови и определять уровни IgG, IgA и IgM до тех пор, пока не будет зарегистрировано восстановление, как определено выше. Во время этого пролонгированного наблюдения будут также регистрировать заболеваемость, тип и тяжесть инфекций.

Слитую молекулу TAC1-Ig вводят пациенту в количестве, эффективном для лечения заболевания пациента. Количество может составлять от 0,01 до 10 мг на 1 кг веса тела пациента. Оптимальная доза для лечения слитой молекулой TAC1-Ig может быть установлена с помощью диаграммы на фиг. 1, описанной более подробно в примере 5.

Слитая молекула TAC1-Ig может быть доставлена посредством подкожных инъекций в переднюю брюшную стенку. Если для введения дозы необходима более чем одна инъекция, инъекции необходимо выполнять на расстоянии нескольких сантиметров и, насколько это возможно, ближе по времени. Для повторного введения лекарственного средства рекомендуется циклически сменять участок введения на

передней брюшной стенке. Возможные зоны для подкожной инъекции в переднюю брюшную стенку изображены на фиг. 2 и включают правую верхнюю наружную область, левую нижнюю наружную область, правую нижнюю наружную область, левую верхнюю наружную область, срединную нижнюю область, а также правое и левое бедра и плечевые части рук (фиг. 2). В альтернативном варианте слитая молекула TACI-Ig согласно изобретению может доставляться посредством внутривенных инъекций или перорально в форме таблеток, каплет, жидких композиций или гелей.

Способы согласно изобретению можно комбинировать с другими способами лечения рака, такими как химиотерапия, лучевая терапия или хирургическое лечение. Слитую молекулу TACI-Ig согласно изобретению можно вводить после окончания химиотерапии, лучевой терапии и/или хирургического лечения онкологического больного. Слитую молекулу TACI-Ig согласно изобретению можно вводить одновременно с другими медикаментами, полезными для пациента. Такие медикаменты могут включать в себя, не ограничиваясь ими, бифосфонаты, эритропоэтин, факторы роста гранулоцитов или колониестимулирующие факторы гранулоцитов, или лекарственные средства для устранения боли, мелфалан, винкристин, доксорубин, талидомид и аналоги нуклеозидов.

В одном варианте осуществления изобретения TACI-Ig вводят в комбинации с бортезомибом. TACI-Ig можно дозировать, как описано выше, и бортезомиб назначают в дозе приблизительно $1,3 \text{ мг/м}^2$ дважды в неделю в течение 2 недель, с последующим периодом покоя в 10 дней. Это представляет собой один цикл лечения. Необязательно, бортезомиб можно вводить внутривенно. Реакцию на лечение проверяют, как описано выше для TACI-Ig в отдельности, и можно назначать циклы дополнительного лечения TACI-Ig и/или бортезомибом. TACI-Ig можно вводить в дозе, как описано выше, или в более низкой дозе в комбинации с бортезомибом в дозе, описанной здесь, или с бортезомибом в более низкой дозе. Дозы TACI-Ig и бортезомиба можно вводить одновременно или чередуя введение TACI-Ig с последующим циклом бортезомиба, или цикл бортезомиба с последующим циклом TACI-Ig. Это дозирование можно повторять.

TACI-Ig можно назначать тем пациентам, у которых развилась устойчивость, или у которых не наблюдается ответ на другие способы лечения, включая лечение бортезомибом, но не ограничиваясь им.

Все перечисленные здесь Патенты США и опубликованные заявки на патент приведены здесь в качестве: ссылки в полном объеме.

Примеры

Следующие примеры, иллюстрирующие различные варианты осуществления настоящего изобретения, никаким образом не должны рассматриваться как ограничивающие объем изобретения.

Пример 1. Тестирование фармакологии токсикологии и фармакокинетики.

TACI-Fc5 на экспериментальной животной модели.

TACI-Fc5 был оценен в модели резистентности хозяина, которая предоставила возможность непосредственно оценить функциональный резерв иммунной системы. Во время лечения под действием TACI-Fc5 мыши подвергались заражению вирусом гриппа. Дексаметазон, применяемый в качестве позитивного контроля, приводил к усилению и пролонгированию вирусной инфекции. TACI-Fc5 снижал уровни циркулирующих В-клеток, общий уровень IgG и IgM, и гриппспецифичных IgG и IgM, но не уменьшал способность животных освобождаться от вирусной инфекции.

Ведущие фармакологические исследования безопасности показали, что TACI-Fc5 не индуцирует никаких значительных изменений в нервной, дыхательной и сердечно-сосудистой системах у мышей или обезьян при подкожном (п/к) введении дозы до 80 мг/кг. У мышей наблюдалось только незначительное повышение настороженности и двигательной активности при введении дозы 80 мг/кг, что может свидетельствовать о незначительном и транзиторном возбуждающем эффекте, при этом уровень, не вызывающий указанного эффекта, составлял 20 мг/кг.

При введении мышам однократной дозы посредством внутривенного (в/в) или подкожного (п/к) введения TACI-Fc5 не вызывал летальности или значительных общих или местных абдоминальных эффектов у животных вплоть до наивысшей технически возможной дозы: 1200 мг/кг.

Введение обезьянам TACI-Fc5 в виде однократной дозы на уровне 240 мг/кг при п/к введении не приводило к летальности или к каким-либо значительным токсическим эффектам.

На основе результатов, полученных через 2 или 4 недели после введения TACI-Fc5 подкожным путем мышам в дозах 5, 20 и 80 мг/кг/через день, можно заключить, что соединение хорошо переносится этим биологическим видом в дозах до 80 мг/кг. Связанные с лечением модификации на уровне иммунной системы наблюдались при всех дозах. Эти изменения включали снижение количества всех и зрелых В-клеток и сывороточных уровней IgG и IgM. Иммуногистохимические тесты, выполненные на селезенке и лимфатических узлах, подтвердили истощение популяции, ограниченное В-клетками, с неизменным количеством Т-клеток. Все эти изменения, в некоторых случаях время- и дозозависимые, рассматривались как преувеличенные фармакологические эффекты, которые ожидалось у восприимчивых биологических видов после введения очень больших доз TACI-Fc5. В целом эти эффекты отмечались после 2 и 4 недель лечения, без значительных признаков прогрессии во времени. Они оказались почти полностью обратимыми через 4 недели после прекращения лечения, за исключением сниженного количества В-клеток.

Чтобы удостовериться в обратимости модуляции В-клеток, провели дальнейшее исследование действия на мышей доз 5 и 20 мг/кг, вводимых в течение 4 недель каждый 2-й день, с более длительными периодами восстановления. Восстановление общего количества и зрелых циркулирующих В-клеток было достигнуто через 2 месяца после прекращения лечения в дозе 5 мг/кг и через 4 месяца - в дозе 20 мг/кг. Кроме того, инъекция при всех дозах индуцировала небольшое увеличение, по сравнению с контрольным введением носителя, воспалительных изменений в участках инъекции.

Подкожное введение ТАСI-Fc5 у обезьян не индуцировало значительных признаков токсичности ни при какой из тестируемых доз: 5, 20 или 80 мг/кг каждый 3-й день, при назначении в течение 4 недель подряд.

Местную толерантность считали удовлетворительной вплоть до самой высокой тестируемой дозы, включая и саму эту дозу. Были индуцированы дозозависимые и обратимые незначительные или умеренные изменения воспалительного происхождения (главным образом периваскулярные инфильтраты из мононуклеарных и эозинофильных клеток), но они рассматривались в основном как связанные с местным присутствием экзогенных белков. Только при введении большой дозы у нескольких животных проявилось незначительное или умеренное подострое воспаление, у одного из них это было связано с образованием кисты.

Наблюдалось снижение количества циркулирующих В-клеток при определении субпопуляций лимфоцитов, а также гистологическое истощение фолликулярной маргинальной зоны селезенки (известной как область, зависящая от В-клеток) и уменьшение общего уровня в сыворотке IgG и IgM. Это рассматривалось как результат фармакодинамических свойств ТАСI-Fc5, как показано в фармакологических экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Степень этих изменений была специально гипертрофирована, как и предполагается в токсикологических исследованиях, в которых животным преднамеренно вводят большие дозы тестируемого соединения. В то время как низкие уровни в сыворотке IgG и IgM и истощение лимфоцитов в селезенке демонстрируют явную тенденцию к восстановлению в течение предусмотренного месячного периода прекращения лечения, подобной закономерности в отношении общего количества и в отношении зрелых циркулирующих В-клеток не наблюдается, что указывает на то, что для восстановления необходимо более длительное время.

В конце периода лечения (4-я неделя) у самцов и самок в группе, получавшей большую дозу (80 мг/кг), наблюдалось небольшое, но статистически значимое уменьшение средних показателей общего содержания белка по сравнению с контролем. Небольшая тенденция к уменьшению также отмечалась при той же дозе на 2-й неделе и в конце периода восстановления.

Модификации белка сыворотки у самок, получавших большую дозу, в конце периода введения включали уменьшение процентного содержания глобулинов и увеличение альбуминов и фракции альфа-1-глобулинов. Фракция альфа-1-глобулинов также оказалась более высокой, чем в контроле, у самок в группе 3 (20 мг/кг).

Иммуногенность ТАСI-Fc5 была низкой как у мышей (только у нескольких самок определялись низкие уровни циркулирующих связывающих антител во время и после периода лечения), так и у обезьян (низкие уровни определялись после периода восстановления у нескольких животных); не было получено никаких данных о нейтрализующих антителах в обоих биологических видах.

ТАСИ-Fc5 тестировали, используя стандартный набор тестов *in vivo* для выявления токсикологического влияния на репродукцию и фертильность (тест фертильности у самцов и самок мышей, получавших лечение путем подкожного введения в дозах 5, 20 и 80 мг/кг каждый 2-й день до и во время спаривания, и до периода имплантации) и внутриутробное развитие плода (исследование внутриутробного развития плода у самок мышей и кроликов, получавших лечение путем подкожного введения в дозах 5, 20 и 80 мг/кг каждый 2-й день в течение периода органогенеза).

Тест фертильности на мышах показал дозозависимое увеличение пред- и постимплантационных потерь после воздействия 20 и 80 мг/кг каждый 2-й день ТАСI-Fc5 по сравнению с контрольной группой.

Оценка данных, полученных на мышах в исследовании внутриутробного развития плода, показала, что ни при какой дозе не наблюдалось никаких эмбриотоксических эффектов и не было индуцировано никаких связанных с соединением эмбриональных пороков развития.

Исследование внутриутробного развития плода, проведенное на кроликах, показало, что лечение вызывает дозозависимый более низкий прирост массы и более низкое потребление пищи у беременных животных, получавших лечение в дозе 20 или 80 мг/кг каждый 2-й день. Вышеупомянутые изменения по материнской линии были связаны с увеличением скорости резорбции и снижением массы тела эмбриона при двух наивысших дозах. Эти результаты позволяют предположить возможное влияние ТАСI-Fc5 на имплантацию мышьиной бластоцисты в матке. Наблюдаемое влияние ТАСI-Fc5 на привес массы тела матери и потребление пищи, вероятно, отвечает за наблюдаемые эффекты на жизнеспособность приплода у кроликов, получавших лечение в дозе 20 или 80 мг/кг каждый 2-й день во время органогенеза, и ТАСI-Fc5 не оказывает никакого прямого токсического эффекта на плод. Никаких пороков развития не было связано с лечением ТАСI-Fc5 у этих двух биологических видов животных.

Кроме того, гистологическую экспертизу мужских и женских гонад и добавочных половых органов проводили при исследованиях токсичности на 2 неделе и на 1 месяце, выполненных путем п/к введения мышам и обезьянам, которым TАСI-Fc5 вводили каждый 2- или каждый 3-й день соответственно, без данных об эффектах, связанных с лечением.

Исследование местной толерантности у кроликов показало, что композиция TАСI-Fc5 хорошо переносилась локально при введении кроликам подкожно в дозе 70 мг/мл.

Исследование фармакокинетики однократной дозы у самцов мышей при в/в и п/к введениях проводили на мышах либо при внутривенном введении в дозе 1 мг/кг, либо при подкожном введении в дозах 1, 5 и 15 мг/кг.

Установленное время до максимальной абсорбции (t_{max}) составляло от 4 до 16 ч, с подсчитанным показателем $t_{1/2}$, приблизительно составляющим 40-50 ч.

Профиль, подобный инфузии, наблюдался в течение первых 30 мин после в/в болюсного введения, после чего TАСI-Fc5 выводился из организма с периодом полувыведения 44 ч. После подкожного введения соотношение между площадью под кривой (AUC), полученной для 3 доз: 1, 5 и 15 мг/кг - составляло 1:5:8, вместо 1:5:15, что соответствует соотношению доз - это позволяет предположить нарушение пропорциональности доз при введении большей дозы.

Биодоступность TАСI-Fc5 у мышей при подкожном введении составляла 76 и 89% для доз 1 и 5 мг/кг, но была более низкой, чем ожидалось для дозы 15 мг/кг (0,42; вычислена как отношение к внутривенной дозе 1 мг/кг). Поскольку кажущийся период полувыведения не изменялся, более низкую биодоступность, наблюдаемую при введении большей дозы, можно объяснить увеличением как клиренса, так и объема распределения или, более вероятно, уменьшением абсорбции вследствие формирования преципитата в участке инъекции.

Исследование фармакокинетики однократной дозы у самцов обезьян при в/в и п/к введениях проводили на самцах обезьян *супомолгус* (самцах яванских макаков), которым вводили препарат либо внутривенным путем в дозе 1 мг/кг, либо подкожным в дозах 1, 5 и 15 мг/кг.

Шесть самцов обезьян разделили на 2 группы по 3 животных в каждой и им производили по 2 введения, разделенных 2-недельным периодом выведения. В 1 периоде препарат вводили в дозе 1 мг/кг в/в (группа 1) и 1 мг/кг п/к (группа 2), а во 2 периоде препарат вводили в дозе 5 мг/кг п/к (группа 1) и 15 мг/кг п/к (группа 2).

Установленное время до максимальной абсорбции (t_{max}) составляло от 6 до 8 ч, с подсчитанным показателем $t_{1/2}$, приблизительно составляющим 120-190 ч.

Профиль, подобный инфузии, наблюдался у 2 из 3 обезьян в течение первых 15 мин после в/в болюсного введения, после чего TАСI-Fc5 выводился из организма с периодом полувыведения 179 ± 29 ч. Объем распределения при непрерывном введении составлял 382 ± 82 мл/кг - объем, приблизительно равный объему внутриклеточной жидкости.

После подкожного введения величины AUC, в сравнении с пропорциональностью доз, составляли 216, 1182 и 2732 мкг/мл ч в случае п/к доз, составлявших 1, 5 и 15 мг/кг. Биодоступность TАСI-Fc5 при подкожном введении (вычисленная в сравнении с 1 мг/кг при в/в введении) составляла 0,92, 1,02 и 0,77 при низкой, средней и большой дозах. Таким образом, TАСI-Fc5 почти полностью абсорбировался при подкожном введении.

В образцах до введения препарата во 2 периоде (между дозами 1 мг/кг, вводимыми путем в/в или п/к введения, в 1 периоде и дозами 5 или 15 мг/кг соответственно во 2 периоде) у всех шести обезьян определялись низкие уровни TАСI-Fc5, тогда как за время 2-недельного периода выведения прошло только 2 периода полувыведения, чего было недостаточно для полного устранения введенного соединения (необходимо 5 периодов полувыведения). Однако установленный вклад предыдущей дозы в AUC мог составлять только приблизительно 2% от всей AUC во 2 периоде.

Установлено снижение уровней IgG в сыворотке на 10,2% после в/в введения. П/к доза 15 мг/кг вызвала несколько больший эффект, в то время как между дозами в 1 и 5 мг/кг, введенными п/к, не наблюдалось никаких различий (снижение на 8,6, 8,4 и 12,3% после доз в 1, 5 и 15 мг/кг соответственно). Установлено снижение уровней IgM в сыворотке 18,0% после в/в введения. Между 3 дозами, введенными п/к, никаких различий не наблюдалось (снижение на 23,5, 23,0 и 24,2% после введения доз 1, 5 и 15 мг/кг соответственно).

Пример 2. Определение переносимой дозы TАСI-Fc5 на здоровых добровольцах.

В настоящее время заканчивается первая фаза I исследования TАСI-Fc5. Это двойное слепое плацебоконтролируемое последовательное исследование с повышением дозы, в котором изучают безопасность, фармакокинетику и фармакодинамику однократных доз TАСI-Fc5, вводимых подкожно здоровым добровольцам мужского пола. Схема структуры исследования представлена ниже, вместе с кратким изложением доступных данных.

TACI-Fc5 вводили человеку впервые; это было двойное слепое плацебоконтролируемое последовательное исследование с повышением дозы, изучающее безопасность, фармакокинетику и фармакодинамику однократных доз TACI-Fc5, вводимых подкожно здоровым добровольцам мужского пола.

В исследование были включены четыре группы субъектов. В каждой группе, получавшей препарат, один выбранный наугад субъект получал инъекцию плацебо, а все другие получали TACI-Fc5. После того как субъекты покидали исследовательский центр через 24 ч после введения препарата, их наблюдали амбулаторно в течение 7 недель в виде плановых обследований. Мониторинг системной и местной толерантности к TACI-Fc5 проводили путем физических исследований, определяя боль в участке инъекции, местные реакции на переносимость в участке инъекции(й) (покраснение, отек, кровоподтек и зуд), определяя показатели жизненно важных функций, ЭКГ в 12 отведениях (электрокардиограммы), производя лабораторные исследования безопасности и записывая нежелательные явления.

Мониторинг фармакокинетических и фармакодинамических маркеров проводили в течение 7-недельного периода после введения препарата. Мониторинг фармакодинамического эффекта TACI-Fc5 проводили, применяя различные маркеры, включая субпопуляции лимфоцитов посредством FACS-анализа (плазмциты (CD138+), незрелые В-клетки (CD19+, IgD-), зрелые В-клетки (CD19+, IgD+), клетки Т-хелперы (CD5+, CD4+), цитотоксические Т-клетки (CD5+, CD8+), общее количество Т-клеток (CD5+)), свободный BlyS, комплекс BlyS/TACI-Fc5, IgG, IgM, анти-TACI-Fc5-антитела.

Увеличение дозы осуществляли с помощью алгоритма в рамках протокола исследования, основываясь на обзоре данных за 3 недели после введения препарата. В четырех группах препарат вводили в следующей дозировке: группа 1 получала 2,1 мг; группа 2 получала 70 мг; группа 3 получала 210 мг и группа 4 получала 630 мг.

Результаты: здоровым добровольцам мужского пола вводили однократные подкожные дозы TACI-Fc5 в дозах от 0,03 до 9 мг/кг. Для определения увеличения дозы в группах использовали данные о безопасности и толерантности, а также FACS-анализ субпопуляций лимфоцитов на 3-й неделе. Исследовали четыре группы, как показано в табл. 3.

Таблица 3

Перераспределение добровольцев

Номер группы	Количество субъектов ^c	Уровень дозы	Введенная доза ^a
1	6	0,03 мг/кг ^b	2,1 мг
2	6	1 мг/кг	70 мг
3	6	3 мг/кг	210 мг
4	5 ^d	9 мг/кг	630 мг

^a При каждом уровне дозы предполагался номинальный вес 70 кг у субъектов, получавших стандартную дозу.

^b Вследствие ошибки из-за разбавления доза, вводимая в одну из групп, была в 10 раз ниже, чем было запланировано (0,3 мг/кг). Эта ошибка была установлена при обзоре данных о фармакокинетики в 1 группе, но после введения препарата во 2 группе.

^c Включая одного субъекта, получавшего плацебо.

^d Одного добровольца исключили из исследования до осуществления инъекции.

Таблица 4

Демографические характеристики

	Статистические показатели	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Общее количество
Возраст (годы)	n (SD)	6	6	6	5	23
	Средний	30,2 (7,0)	33,0 (7,7)	25,3 (6,8)	35,0 (5,4)	30,7 (7,4)
	диапазон	23-43	23-43	19-34	30-44	19-44
Индекс массы тела (кг/м ²)	n	6	6	6	5	23
	Средний (SD)	24,7 (1,7)	26,0 (2,0)	24,0 (3,5)	25,3 (2,8)	24,8 (2,4)
	диапазон	22,2-26,6	23,1-28,9	18,7-28	22,3-27,5	18,7-28,9
Рост (м)	n	6	6	6	5	23
	Средний (SD)	1,82 (0,04)	1,80 (0,08)	1,77 (0,07)	1,73 (0,06)	1,78 (0,07)
	диапазон	1,77-1,88	1,71-1,91	1,67-1,85	1,68-1,78	1,67-1,91
Вес (кг)	n	6	6	6	5	23
	Средний (SD)	81,7 (7,3)	84,2 (12,1)	74,7 (7,6)	76,2 (9,2)	79,0 (9,4)
	диапазон	71-91	69-101	67-84	63-89	63-101
Пол n (%)	n	6	6	6	5	23
	Мужской	6(100%)	6(100%)	6(100%)	5(100%)	23(100%)
	диапазон	0 (0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)
Расовая принадлежность n (%)	n	6	6	6	5	23
	Белые	6(100%)	6(100%)	6(100%)	5(100%)	23(100%)
	Другие	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

В целом среднее значение возраста \pm SD составило 30,7 \pm 7,4 лет, а средний индекс массы тела составил 24,8 кг/м². Все добровольцы были белыми мужчинами. TACI-Fc5 хорошо переносился во всех группах. Не наблюдалось никаких явных влияний на данные физических исследований, показатели жизненно важных функций или ЭКГ в 12 отведениях.

Таблица 5

Список нежелательных явлений, появившихся за время лечения до настоящего времени

Система организма	Характерный признак	Лечение						
		TACI-Fc5 2,1 мг	TACI-Fc5 70 мг	TACI-Fc5 210 мг	TACI-Fc5 630 мг	Плацебо	Общее	
		N	N	N	N	N	N	%
Расстройства со стороны глаз	Отек века	1					1	2,1
Гастроинтестинальные расстройства	Боль в животе						1	2,1
	Диарея		1	1	1	1	4	8,5
	Изъязвление слизистой ротовой полости				1	1	2	4,3
	Тошнота		1		1	1	3	6,4
Общие расстройства и состояние участка введения	Рвота			1	1		2	4,3
	гриппоподобное заболевание				1	2	3	6,4
Инфекции и инвазии	Назофарингит		4	1	1		6	10,6
	Перианальный абсцесс	1					1	2,1
Травма, отравление и осложнения процедур	ушиб					1	1	2,1
	Сочетанная травма			1			1	2,1
Расстройства скелетных мышц и соединительной ткани	Артралгия		1				1	2,1
	Боль в спине					1	1	2,1
Расстройства нервной системы	Головная боль	1	2	2	2	1	8	17,0
Респираторные, торакальные и медиастинальные расстройства	Кашель		1		1	1	3	6,4
	Заложенность носа			1		1	2	4,3
	Фаринголарингеальная боль	1	2	1	2	1	7	14,9
Расстройства кожи и подкожных тканей	Генерализованная сыпь					1	1	2,1

Преходящее покраснение и отек в участке введения наблюдались у некоторых субъектов, при этом покраснение развивалось у всех субъектов в группах 3 и 4. Несмотря на то что, как оказалось, частота развития реакций в участке инъекции повышается в группах, получающих более высокие дозы, полагают, что это связано с увеличением объема (и числа) инъекций.

На протяжении 7 недель дозированного введения препарата сообщалось о 48 нежелательных явлениях, произошедших за период лечения. Большинство из них (44 явления, 91,7%) были легкой степени выраженности, тогда как остальные были средней степени выраженности (4 явления, 8,3%). За этот период не было отмечено никаких тяжелых нежелательных явлений и никаких серьезных нежелательных явлений. Не наблюдалось никакой явной зависимости между вводимыми дозами TACI-Fc5 и частотой развития, интенсивностью или установленным соотношением нежелательных явлений. Отмеченные до настоящего времени нежелательные явления резюмированы в табл. 5.

Выявлена значительная толерантность TACI-Fc5 в дозах до 630 мг, при этом не было отмечено значительного превышения безопасности. Эти данные подтверждают пригодность предполагаемых доз для исследований по предложенному вопросу.

Был выполнен анализ без компартиментализации концентраций ТАС1 в сыворотке. Этот предварительный анализ выполняли с применением номинальных интервалов отбора проб. Субъекты 2, 6 и 13 имели измеримую концентрацию до введения препарата, таким образом, до проведения анализа исходные концентрации вычитали из всех результатов измерения после введения препарата. Фармакокинетические параметры после однократного подкожного введения доз в 2,1, 70, 210 и 630 мг суммированы в табл. 6. Концентрации лекарственного средства были близки к пределу количественного определения в анализе после введения дозы в 2,1 мг ТАС1-Fc5, ограничивая значение данных при этой величине дозы. При дозах 70 мг и выше Tmax (время до максимальной абсорбции) варьировало от 16 до 36 ч, и суммарное среднее tm (вычисленное из конечной части кривой) составило 303 ч. Кроме того, AUC (экстраполируемая до бесконечности) и Cmax увеличивались в непропорционально большем соотношении, чем доза.

Таблица 6

Параметры PK

Параметр	Лечение	n			Минимальное значение	Среднее значение	Максимальное значение	коэффициент вариации
Cmax(мкг/мл)	2,1 мг	5	0,015	0,011	0,005	0,013	0,032	74
Tmax (ч)	2,1 мг	5	-	-	8	72	336	-
t 1/2 (ч)	2,1 мг	4	204	180	45	203	365	88
AUC (чмкг/мл)	2,1 мг	4	8,55	9,65	0,524	6,62	20,4	113
% AUC экстра	2,1 мг	4	36	24	13	32	69	65
CL/F (л/ч)	2,1 мг	4	1,70	1,90	0,10	1,34	4,01	112
Cmax(мкг/мл)	70 мг	5	0,617	0,236	0,426	0,496	0,985	38
Tmax (ч)	70 мг	5	-	-	16	16	36	-
t 1/2 (ч)	70 мг	5	255	23	219	264	276	9
AUC (чмкг/мл)	70 мг	5	79,7	15,7	65,4	72,5	101	20
% AUC экстра	70 мг	5	10	1	9	11	11	12
CL/F (л/ч)	70	5	0,90	0,17	0,69	0,97	1,07	18
Cmax(мкг/мл)	210 мг	5	3	0,902	1,84	2,90	4,16	30
Tmax (ч)	210 мг	5	-	-	12	16	36	-
t 1/2 (ч)	210 мг	5	429	160	169	433	568	37
AUC (чмкг/мл)	210 мг	5	260	72	167	267	344	28
% AUC экстра	210 мг	5	6	3	1	6	9	54
CL/F (л/ч)	210 мг	5	0,86	0,26	0,61	0,79	1,25	31
Cmax(мкг/мл)	630 мг	4	13,9	2,79	11,4	13,7	16,7	20
Tmax (ч)	630 мг	4	-	-	16	16	16	-
t 1/2 (ч)	630 мг	4	313	16	291	316	329	5
AUC (чмкг/мл)	630 мг	4	992	194	719	1040	1170	20
% AUC экстра	630 мг	4	2	0	1	2	2	18
CL/F (л/ч)	630 мг	4	0,66	0,15	0,54	0,61	0,88	23

Фармакодинамические анализы выявили снижение исходных уровней IgM за 7 недель после однократного введения доз в 70, 210 или 630 мг. Несмотря на то что не удалось установить никакой явной зависимости при малом объеме выборки, степень снижения IgM была наибольшей в группе, получавшей наивысшую дозу. Как оказалось, у субъектов в группе, получавшей дозу 70 мг, наблюдался возврат уровней IgM к исходным через 7 недель после введения препарата. На этот момент уровни в группах, получавших более высокие дозы, оставались пониженными. Не было отмечено никакого явного влияния на уровни IgG или на субпопуляции лимфоцитов, которые определяли с помощью FACS-анализа.

Отмечалось пропорциональное повышение уровней комплексов BLYS/TAC1-Fc5 в течение периода выборки, которое достигало плато приблизительно через 600 ч после введения препарата.

Заключение: клинические данные, полученные на здоровых мужчинах-добровольцах, показали, что ТАС1-Fc5 является безопасным и хорошо переносится субъектами в дозах до 630 мг. Природа, частота развития и тяжесть нежелательных явлений были сопоставимы в группах лечения ТАС1-Fc5 и плацебо. Не было отмечено никаких клинически значимых изменений в результатах физического исследования, показателях жизненно важных функций, ЭКГ в 12 отведениях или в лабораторных параметрах безопасности. Местная толерантность в участке введения была хорошей. Эти данные подтверждают предложенные дозы у субъектов с ВСМ.

После введения однократных доз у здоровых субъектов мужского пола TACI-Fc5 достиг Tmax между 16 и 20 ч, AUC увеличилась пропорционально дозе, несмотря на то что повышение Cmax было больше, чем пропорционально дозе. Средний период полувыведения TACI-Fc5 составил приблизительно 300 ч. Был отмечен фармакодинамический эффект на уровне IgM в дозах 70, 210 и 630 мг. Не было отмечено никакого явного влияния лечения на IgG или субпопуляции лимфоцитов после введения однократной дозы TACI-Fc5. Не отмечено никаких известных или предполагаемых рисков особой тяжести или серьезности, которые не были ранее приняты во внимание в предложенных протоколах исследования.

Пример 3. Лечение пациента с неходжкинской лимфомой с применением композиций TACI-Fc5.

Пациентов клинически обследовали до еженедельного введения TACI-Fc5. Для состоятельности экспериментов запланировано введение TACI-Fc5 приблизительно в одинаковое время (± 6 ч) для каждого пациента для каждой последующей дозы за период лечения в 5 недель. Базовые исследования определяются как исследования, проведенные непосредственно перед первым введением TACI-Fc5. Первый день введения TACI-Fc5 определяется как "День 1". Перед введением первой дозы лекарственного препарата TACI-Fc5 пациенту выполняют следующие процедуры: промежуточная история, промежуточное физическое обследование, определение показателей жизненно важных функций организма, измерение роста и веса (только при введении первой дозы), лабораторные тесты на безопасность: гематология, коагуляция, иммуноглобулины и химия, исследование сопутствующих медикаментов/процедур, образцов крови (временной паттерн регистрируют на e-CRF) для фармакокинетического определения сывороточной концентрации TACI-Fc5, сывороточных уровней свободного APRIL и BLYS, комплекса BLYS/TACI-Fc5, количества клеток с помощью поточной цитометрии и определения анти-TACI-антител (только при введении первой дозы).

Пациентам вводят подкожно от 2 до 10 мг/1 кг композиции TACI-Fc5 в 1-, 7-, 14-, 21- и 28-й дни.

После введения препарата выполняют следующие исследования: определение показателей жизненно важных функций (VS) (для субъектов, получивших первую дозу TACI-Fc5, VS будут определять через 1, 2, 4 и 8 ч после введения). Показатели жизненно важных функций при введении последующих доз TACI-Fc5 определяют через 1 и 2 ч после введения; непрерывного исследования нежелательных явлений и непрерывного исследования сопутствующей лекарственной терапии/процедур.

На 2-, 3- и 4-й дни проводили специальные исследования фармакокинетики/фармакодинамики. Эти исследования включают забор крови, определение фармакокинетической концентрации в сыворотке TACI-Fc5, фармакодинамические измерения свободного APRIL и BLYS, комплекса BLYS/TACI-Fc5, количества лимфоцитов и концентрации в сыворотке IgG и IgM.

После доставки всех доз TACI-Fc5 состояние пациентов оценивали еженедельно в течение дополнительных 4 недель после введения последней дозы TACI-Fc5: непрерывное исследование нежелательных явлений; непрерывное исследование сопутствующей лекарственной терапии/процедур; промежуточная история; промежуточное физическое обследование, показатели жизненно важных функций, лабораторные тесты на безопасность: гематология, коагуляция, иммуноглобулины и химия, образцы крови (временной паттерн регистрируют на e-CRF) для фармакокинетического определения сывороточной концентрации TACI-Fc5, сывороточных уровней свободного APRIL и BLYS, комплекса BLYS/TACI-Fc5, количества клеток с помощью поточной цитометрии.

Во время последующего контрольного визита на 56-й день к вышеупомянутым исследованиям необходимо добавить следующие: оценочную шкалу ECOG (Восточная кооперированная группа по онкологии), рост и вес, анализ мочи, определение анти-TACI-антител. Анти-TACI-антитела собирают в день 85 у пациентов, не входящих в дополнительное исследование.

Повторное определение стадий, характерных для заболевания, выполняли совместно с последним визитом приблизительно через 28 дней после последнего этапа лечения TACI-Fc5. Пациенты без прогрессии заболевания во время повторного определения стадий могут входить в группу, получающую дополнительное лечение. Рекомендуется выполнять компьютерную томографию и позитронно-эмиссионную томографию грудной, брюшной и тазовой полости, даже если эти области первоначально не были включены, вследствие непредсказуемого характера рецидивирования В-клеточных опухолей. Необходим забор аспирата костного мозга и биопсия, если заболевание затрагивает костный мозг при зачислении в исследование. Опухольеспецифичные индикаторы тяжести заболевания (например, частота t (Marrone X., Ann Rheum Dis. 2003; 62(2): 168-171. Kelly et al. Cancer Res. 2001; 60(4): 1021-1027) транслокации с помощью флуоресцентной *in situ* гибридизации в лимфоме клеток мантийной ткани).

Пациентов, у которых наблюдается восстановление как лимфоцитов, так и классов иммуноглобулинов либо до исходных уровней до лечения, либо до абсолютного числа лимфоцитов $800/\text{мм}^3$, IgG > 400 мг/дл, IgA > 65 мг/дл и IgM > 40 мг/дл, формально исключают из исследования, сразу после окончания последующего наблюдения безопасности в течение 28 дней после введения последней дозы TACI-Fc5. У пациентов, у которых эти уровни не были достигнуты, ежемесячно проверяли анализы крови и уровни IgG, IgA и IgM до тех пор, пока не было зарегистрировано восстановление, как определено выше.

Пример 4. Процедура инъекционного введения TACI-Fc5.

Если для доставки TACI-Fc5 выбрано подкожное введение, то молекулу вводят подкожно в брюшную стенку и участки, чередующиеся в соответствии с нижеприведенной диаграммой (фиг. 2). Необходимо осторожность во избежание инъекции в кровеносный сосуд. Чрезвычайно важно чередовать участки, чтобы сохранять кожу здоровой. Повторные инъекции в одно и то же место могут вызвать рубцевание и склерозирование жировой ткани. Инъекции необходимо выполнять в следующие области и чередовать их еженедельно (фиг. 2): инъекция в правую верхнюю наружную область в течение 1 недели; инъекция в левую нижнюю наружную область в течение второй недели; инъекция в правую нижнюю наружную область в течение третьей недели; инъекция в левую верхнюю наружную область в течение четвертой недели и инъекция в срединную нижнюю область в течение пятой недели.

Для пациентов, требующих более одной инъекции на дозу, инъекции начинают с положения в 12 ч для области введения, определенной для введения на этой неделе (согласно фиг. 2, с 1 по 5 неделю), и затем последовательно перемещают по кругу по часовой стрелке в положение 2, 4, 6, 8 и/или 10 ч, как необходимо для требуемого количества инъекций на дозу. Инъекции должны отстоять друг от друга по меньшей мере на 2,5 см (1 дюйм) и вводиться как можно ближе по времени. Не допускается вводить в один инъекционный участок более 1,5 мл. Если пациенту затруднительно вводить препарат в область живота, можно вводить препарат в дополнительные области: области 6 и 7 (передняя поверхность бедер, фиг. 2) и области 8 и 9 (плечевые части рук, фиг. 2).

К общим симптомам реакций в участках инъекции относятся зуд, болезненность, ощущение тепла и/или покраснение в участке инъекции.

Пример 5. Протокол повышения дозы для введения молекулы TACI-Ig.

Этот протокол повышения дозы для оценки TACI в В-клеточных злокачественных образованиях (ВСМ) учитывает введение препарата двум пациентам в группе, получающей определенную дозу (2, 4, 7, 10 мг/кг), еженедельно в течение 5 недель, с последующим введением в течение 8 дней. При условии, что не наблюдается дозозамещающая токсичность (DLT), один дополнительный пациент может получать лечение в дозе, имеющей обычный уровень. После введения третьему пациенту указанной дозы в течение 5 последовательных недель и наблюдения в течение 2 недель и при условии, что не наблюдается DLT, может происходить повышение, и два пациента могут получать лечение в дозе, имеющей следующий уровень. Дополнительные два пациента могут одновременно получать лечение в дозе, имеющей предыдущий уровень, при которой не наблюдается DLT, может происходить повышение (фиг. 1). Эта консервативная схема повышения дозы была основана на ограниченном преклиническом и клиническом опыте исследования TACI-Fc5 до инициирования ВСМ.

Три пациента были включены в исследование и получали лечение в исследовании по повышению дозы в ВСМ до момента получения дозы 2 мг/кг и 2 пациента в настоящее время включены в исследование и получают лечение в группе, получающей дозу 4 мг/кг.

До настоящего времени в четырех продолжающихся исследованиях получали лечение в режиме либо однократного, либо повторного введения TACI-Fc5 или плацебо общим числом 118 пациентов (92 получали активное лекарственное средство, 26 плацебо). Каждое из исследований выполняли под эгидой Комиссии по контролю мер обеспечения безопасности или Комитета мониторинга безопасности.

SRB/SMC для этих исследований выполнили в общей сложности девять обзоров, от контингентов пациентов, получающих однократные и повторные подкожные дозы TACI-Fc5 до кумулятивной дозы 60 мг/кг (три цикла лечения по 5 недель и 4-недельный период отсеивания). Вопросы относительно безопасности лечения TACI-Fc5 эти комитеты не поднимали. Кроме того, непрерывное наблюдение безопасности до настоящего времени не выявило никаких клинически значимых проблем, связанных с безопасностью.

В исследовании множественной миеломы TACI-Fc5 в общей сложности 6 пациентов в 1 и 2 группах закончили исследование повышения дозы, в котором они получали инъекции 2 мг/кг (3 пациента) или 4 мг/кг (3 пациента) еженедельно в течение 5 недель, с последующими 4 неделями наблюдения. Кроме того, три пациента в 3 группе получали 7 мг/кг еженедельно в течение 1 недели. Два пациента из 1 группы и один пациент из 2 группы достигли стабильности заболевания в исследовании повышения дозы и были включены в дополнительное исследование.

Каждый из этих пациентов получил до 10 дополнительных еженедельных инъекций 2 или 4 мг/кг. Дозы, выбранные для оценки TACI-Fc5 в ВСМ, соответствуют дозам в вышеописанном исследовании множественной миеломы: 2, 4, 7 и 10 мг/кг, вводимым в виде 5 еженедельных инъекций до суммарной кумулятивной дозы 10, 20, 35 и 50 мг/кг.

Пределы безопасности на основе воздействия были вычислены на основе наблюдаемых воздействий на здоровых добровольцах, получающих однократные дозы TACI-Fc5, предсказуемых воздействий на пациентах с ВСМ и в сравнении с наблюдаемыми воздействиями у обезьян сунотолгус, получающих 80 мг/кг каждые три дня в течение 4 недель (доза NOAEL). Рассчитанные пределы безопасности для исходной дозы 2 мг/кг и наивысшей предлагаемой дозы 10 мг/кг составили в 291 и в 46 раз соответственно.

ТАСИ-Fc5, вводимый обезьянам в дозах 0, 4, 2 и 10 мг/кг каждый третий день в течение 13 или 3 недель, не индуцировал симптомы токсичности. Полагают, что снижение количества зрелых и общего количества циркулирующих В-клеток и тенденция к снижению количества незрелых В-клеток, а также снижение IgG и IgM в сыворотке, а также истощение В-клеточно-компетентных областей селезенки и лимфатических узлов происходит вследствие фармакодинамической активности ТАСИ-Fc5 и показанной обратимости у животных, подвергнутых восстановлению после 13 недель лечения.

ТАСИ-Fc5, вводимый в тех же дозах мышам через день в течение 13 или 26 недель, индуцировал главным образом время- и дозозависимые изменения, связанные с ожидаемым фармакологическим действием ТАСИ-Fc5, включая снижение IgG и IgM и общего количества и зрелых В-клеток в сыворотке при всех дозах, сопровождающееся тенденцией к снижению уровня гамма-глобулинов в сыворотке при всех дозах. Гистологическое исследование не показало никаких токсикологически значимых изменений, за исключением ожидаемых результатов, основанных на предыдущих исследованиях, включая снижение количества В-клеток в корковом слое лимфатических узлов и маргинальной зоне селезенки, и усиление подострого воспаления в участке инъекции.

С учетом существующих в настоящее время данных о безопасности для человека и преclinical данные и в особенности с учетом того, что агент исследования хорошо переносился субъектами с множественной миеломой в дозах на уровне 2, 4 и 7 мг/кг, до 15 доз в течение 5 месяцев, одновременное включение трех субъектов в группу, получающую определенную дозу, планировалось для доз 7 и 10 мг/кг.

Пример 6. Дальнейшее лечение пациентов с начальной благоприятной реакцией на ТАСИ-Fc5.

Пациенты с неходжкинской лимфомой, у которых наблюдался положительный ответ на начальное лечение ТАСИ-Fc5 в течение 5 недель, далее получали лечение недельной дозой ТАСИ-Fc5. Пациенты получали до 24 последовательных недельных доз ТАСИ-Fc5, подкожно (п/к), вводимых в виде многократных инъекций, по мере необходимости, не более 1,5 мл каждая. Для каждой инъекции предоставляется жидкая композиция ТАСИ-Fc5 в пробирках с концентрацией 70 мг/0,5 мл.

Эти дополнительные 24 последовательные инъекции вводят в том же уровне дозы, который пациенты предварительно переносили при начальном лечении в течение 5 недель. Однако пациенты, которые первоначально получали 10 мг/кг ТАСИ-Fc5, могут получать уменьшенную дозу 7 мг/кг.

Список последовательностей

110> Broly, Herve
 Ythier, Arnaud
 Busby, Sharon J.
 Ansell, Steven M.
 Ohrstrom, Jan
 Nestorov, Ivan
 Sievers, Eric

<120> Способы лечения В-клеточных злокачественных образований с помощью
 слитой молекулы TACI-IG

<130> 05558.0033.00PC01

<150> US 60/706,912

<151> 2005-08-09

<160> 2

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 154

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 1

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

016083

Asn Leu Pro Pro Glu Leu Arg Arg Gln Arg Ser Gly Glu Val Glu Asn
 115 120 125

Asn Ser Asp Asn Ser Gly Arg Tyr Gln Gly Leu Gly His Arg Gly Ser
 130 135 140

Glu Ala Ser Pro Ala Leu Pro Gly Leu Lys
 145 150

<210> 2
 <211> 348
 <212> белок
 <213> Homo sapiens

<400> 2

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
 1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Leu Ser Gln Glu Ile His Ala Glu Leu Arg Arg
 20 25 30

Phe Arg Arg Ala Met Arg Ser Cys Pro Glu Glu Gln Tyr Trp Asp Pro
 35 40 45

Leu Leu Gly Thr Cys Met Ser Cys Lys Thr Ile Cys Asn His Gln Ser
 50 55 60

Gln Arg Thr Cys Ala Ala Phe Cys Arg Ser Leu Ser Cys Arg Lys Glu
 65 70 75 80

Gln Gly Lys Phe Trp Asp His Leu Leu Arg Asp Cys Ile Ser Cys Ala
 85 90 95

Ser Ile Cys Gly Gln His Pro Lys Gln Cys Ala Tyr Phe Cys Glu Asn
 100 105 110

Lys Leu Arg Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 115 120 125

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe
 130 135 140

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 145 150 155 160

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 165 170 175

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 180 185 190

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 195 200 205

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 210 215 220

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 225 230 235 240

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 245 250 255

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 260 265 270

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 275 280 285

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 290 295 300

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 305 310 315 320

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 325 330 335

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 340 345

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения неходжкинской лимфомы у пациента, включающий в себя введение пациенту композиции, включающей в себя слитую молекулу, содержащую:

- (i) внеклеточный домен TAC1 или его фрагмент, который связывает B_{LyS}; и
- (ii) константный домен человеческого иммуноглобулина,

где указанную композицию вводят в количестве от 0,01 до 10 мг на 1 кг веса тела пациента с частотой, выбранной из:

- (a) 5 раз в течение 4-недельного интервала;
- (b) 5 раз в течение 4-недельного интервала с последующим дополнительным еженедельным введением и
- (c) 5 раз в течение 4-недельного интервала с последующим введением один раз в неделю в течение 2-30 недель.

2. Способ по п.1, в котором указанный внеклеточный домен TAC1 включает аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80% идентичную аминокислотным остаткам SEQ ID NO: 1.

3. Способ по п.2, в котором указанный внеклеточный домен TAC1 включает аминокислотные остатки 30-110 SEQ ID NO: 1.

4. Способ по п.1, в котором указанный константный домен человеческого иммуноглобулина включает модифицированную часть Fc человеческого IgG и в котором предпочтительно указанной слитой молекулой является слитая молекула TAC1-Fc5.

5. Способ по п.1, в котором указанная слитая молекула включает внеклеточный домен TAC1 с аминокислотами 1-154 SEQ ID NO: 1.

6. Способ по п.1, в котором указанная слитая молекула включает SEQ ID NO: 2.

7. Способ по п.1, дополнительно включающий в себя введение лекарственного средства, выбранного из группы, состоящей из бифосфоната, эритропоэтина, факторов роста гранулоцитов, колониестимулирующего фактора гранулоцитов, лекарственных средств для устранения боли, мелфалана, винкристина, доксорубина, талидомида и аналогов нуклеозидов.

8. Способ по п.1, в котором указанную композицию вводят подкожно, орально или внутривенно.

9. Способ по п.1, где пациентом является человек.

SEQ ID NO: 1

```

Met Ser Gly Leu Gly Arg Ser Arg Arg Gly Gly Arg Ser Arg Val Asp
1      5      10
Gln Glu Glu Arg Phe Pro Gln Gly Leu Trp Thr Gly Val Ala Met Arg
20      25      30
Ser Cys Pro Glu Glu Gln Tyr Trp Asp Pro Leu Leu Gly Thr Cys Met
35      40      45
Ser Cys Lys Thr Ile Cys Asn His Gln Ser Gln Arg Thr Cys Ala Ala
50      55      60
Phe Cys Arg Ser Leu Ser Cys Arg Lys Glu Gln Gly Lys Phe Tyr Asp
65      70      75      80
His Leu Leu Arg Asp Cys Ile Ser Cys Ala Ser Ile Cys Gly Gln His
85      90      95
Pro Lys Gln Cys Ala Tyr Phe Cys Glu Asn Lys Leu Arg Ser Pro Val
100     105     110
Asn Leu Pro Pro Glu Leu Arg Arg Gln Arg Ser Gly Glu Val Glu Asn
115     120     125
Asn Ser Asp Asn Ser Gly Arg Tyr Gln Gly Leu Glu His Arg Gly Ser
130     135     140
Glu Ala Ser Pro Ala Leu Pro Gly Leu Lys
145     150

```

Фиг. 3

SEQ ID NO: 2

```

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1      5      10      15
Ala Val Phe Val Ser Leu Ser Gln Glu Ile His Ala Glu Leu Arg Arg
20      25      30
Phe Arg Arg Ala Met Arg Ser Cys Pro Glu Glu Gln Tyr Trp Asp Pro
35      40      45
Leu Leu Gly Thr Cys Met Ser Cys Lys Thr Ile Cys Asn His Gln Ser
50      55      60
Gln Arg Thr Cys Ala Ala Phe Cys Arg Ser Leu Ser Cys Arg Lys Glu
65      70      75      80
Gln Gly Lys Phe Tyr Asp His Leu Leu Arg Asp Cys Ile Ser Cys Ala
85      90      95
Ser Ile Cys Gly Gln His Pro Lys Gln Cys Ala Tyr Phe Cys Glu Asn
100     105     110
Lys Leu Arg Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
115     120     125
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe
130     135     140
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
145     150     155     160
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
165     170     175
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
180     185     190
Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
195     200     205
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
210     215     220
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
225     230     235     240
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
245     250     255
Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
260     265     270
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
275     280     285
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
290     295     300
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
305     310     315     320
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
325     330     335
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
340     345

```

Фиг. 4



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2