



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2020121591, 28.11.2018

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

01.12.2017 US 62/593,830;

18.09.2018 US 62/732,985

(43) Дата публикации заявки: 04.01.2022 Бюл. № 1

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 02.07.2020

(86) Заявка РСТ:

US 2018/062829 (28.11.2018)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2019/108639 (06.06.2019)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр. 3, ООО

"Юридическая фирма Городисский и

Партнеры"

(71) Заявитель(и):

ПФАЙЗЕР ИНК. (US),**ДЗЕ РИДЖЕНТС ОФ ДЗЕ****ЮНИВЕРСИТИ ОФ КАЛИФОРНИЯ (US)**

(72) Автор(ы):

ГРОТ, Рэйчел (US),**СНАЙДЕР, Уильям, Брайан (US),****ЦАО, Сяньцзюнь (US),****ДАНН, Роберт, Джозеф (US),****ДАЛ ПОРТО, Джозеф (US),****КАРИН, Майкл (US)****(54) АНТИТЕЛА ПРОТИВ CXCR5 И ИХ КОМПОЗИЦИИ И ПРИМЕНЕНИЕ****(57) Формула изобретения**

1. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, специфически связывающееся с CXCR5, где антитело является по меньшей мере одним антителом, выбранным из группы, состоящей из:

а) антитела, содержащего

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2;

CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3;

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:4;

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:7;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:8; и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:9;

б) антитела, содержащего

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2;

CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3;

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:4;

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:7;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:8; и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:11;

в) антитела, содержащего

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:14;
CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:15;
CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16;
CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:19;
CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:20; и
CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21;

d) антитела, содержащего VL, содержащую аминокислотную последовательность, кодируемую вставкой плазмиды, депонируемой в АТСС и имеющей регистрационный номер РТА-124324, и

VH, содержащую аминокислотную последовательность, кодируемую вставкой плазмиды, депонируемой в АТСС и имеющей регистрационный номер РТА-124323;

e) антитела, содержащего VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:1, и VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:6;

f) антитела, содержащего VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:13, и VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18;

g) антитела, содержащего VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:47, и VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:52;

h) антитела, содержащего VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:5, и VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:6;

i) антитела, содержащего VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:5, и VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:10;

j) антитела, содержащего VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:13, и VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17;

k) антитела, содержащего VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:1, и VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:12;

l) антитела, содержащего LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, и HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:23;

m) антитела, содержащего LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:24, и HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:25;

n) антитела, содержащего LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:26, и HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:27;

o) антитела, содержащего LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:28, и HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:29;

p) антитела, содержащего VL, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:95, и VH, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:96; и

q) антитела, содержащего LC, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:97, и HC, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:98.

2. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, специфически связывающиеся с С-Х-С-хемокиновым рецептором 5 (CXCR5), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является по меньшей мере одним антителом, выбранным из группы, состоящей из:

a) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с эпитопом hCXCR5, содержащим лейцин в положении аминокислотного остатка 11 в соответствии с нумерацией аминокислотной последовательности SEQ ID NO:32, но не связывающегося с указанным эпитопом, если указанный остаток не является лейцином;

b) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с эпитопом hCXCR5, содержащим лейцин в положении аминокислотного остатка 11 в соответствии с нумерацией аминокислотной последовательности SEQ ID NO:32, но не связывающегося с указанным эпитопом, если указанный остаток является треонином;

c) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с эпитопом hCXCR5, содержащим аспарат в положении аминокислотного остатка 22 в соответствии с нумерацией аминокислотной последовательности SEQ ID NO:32, но не связывающегося с указанным эпитопом, если указанный остаток не является аспаратом;

d) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с эпитопом hCXCR5, содержащим аспарат в положении аминокислотного остатка 22 в соответствии с нумерацией аминокислотной последовательности SEQ ID NO:32, но не связывающегося с указанным эпитопом, если указанный остаток является аланином;

e) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с эпитопом hCXCR5, содержащим лейцин в положении аминокислотного остатка 11 и аспарат в положении аминокислотного остатка 22 в соответствии с нумерацией аминокислотной последовательности SEQ ID NO:32, но не связывающегося с указанным эпитопом, если указанный лейцин заменен треонином и/или указанный аспарат заменен аланином;

f) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с hCXCR5 или его фрагментом, содержащим лейцин в положении аминокислотного остатка 11 в соответствии с нумерацией аминокислотной последовательности SEQ ID NO:32, но не связывающегося с hCXCR5 или его фрагментом, если указанный остаток не является лейцином;

g) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с hCXCR5 или его фрагментом, содержащим лейцин в положении аминокислотного остатка 11 в соответствии с нумерацией аминокислотной последовательности SEQ ID NO:32, но не связывающегося с hCXCR5 или его фрагментом, если указанный остаток является треонином;

h) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с hCXCR5 или его фрагментом, содержащим аспарат в положении аминокислотного остатка 22 в соответствии с нумерацией аминокислотной последовательности SEQ ID NO:32, но не связывающегося с hCXCR5 или его фрагментом, если указанный остаток не является аспаратом;

i) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с hCXCR5 или его фрагментом, содержащим аспарат в положении аминокислотного остатка 22 в соответствии с нумерацией аминокислотной последовательности SEQ ID NO:32, но не связывающегося с hCXCR5 или его фрагментом, если указанный остаток является аланином; и

j) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с hCXCR5 или его фрагментом, содержащим лейцин в положении аминокислотного остатка 11 и аспарат в положении аминокислотного остатка 22 в соответствии с нумерацией аминокислотной последовательности SEQ ID NO:32, но не связывающегося с hCXCR5 или его фрагментом, если указанный лейцин заменен треонином и/или указанный аспарат заменен аланином.

3. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, специфически связывающиеся с C-X-C-хемокиновым рецептором 5 (CXCR5), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является по меньшей мере одним антителом, выбранным из группы, состоящей из:

a) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с hCXCR5, экспрессирующимся на В-клетках человека, с кажущейся аффинностью EC₅₀ приблизительно 6,60 пМ со стандартным отклонением приблизительно ±2,33 пМ;

б) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с hCXCR5, экспрессирующимся на циркулирующих фолликулярных Т-хелпер-подобных клетках человека, с кажущейся аффинностью EC_{50} приблизительно 5,89 пМ со стандартным отклонением приблизительно $\pm 1,40$ пМ;

с) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с hCXCR5, экспрессирующимся на фолликулярных Т-хелперных (Tfh) клетках человека, с кажущейся аффинностью EC_{50} приблизительно 10,6 пМ;

д) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с cynoCXCR5, экспрессирующимся на В-клетках яванского макака, с кажущейся аффинностью EC_{50} приблизительно 1,32 пМ;

е) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с cynoCXCR5, экспрессирующимся на Tfh-подобных клетках яванского макака, с кажущейся аффинностью EC_{50} приблизительно 10,5 пМ;

ф) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, антагонистически действующего на передачу сигнала CXCR5-CXCL13 в репортерном анализе цАМФ с EC_{50} приблизительно 961 пМ;

г) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, демонстрирующего активность ADCC против В-клеток человека, экспрессирующих hCXCR5, с EC_{50} приблизительно 2,01 пМ со стандартным отклонением приблизительно $\pm 2,28$ пМ;

h) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, демонстрирующего активность ADCC против Tfh-подобных клеток человека, экспрессирующих hCXCR5, с EC_{50} приблизительно 4,28 пМ со стандартным отклонением приблизительно $\pm 2,88$ пМ;

и) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, демонстрирующего активность ADCC против Tfh-клеток человека, экспрессирующих hCXCR5, с EC_{50} приблизительно 0,11 пМ;

j) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, демонстрирующего активность ADCC против В-клеток яванского макака, экспрессирующих cynoCXCR5, с EC_{50} приблизительно 15,3 пМ со стандартным отклонением приблизительно $\pm 11,7$ пМ;

к) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с hCXCR5, но не связывающегося детектируемо с хемокиновыми рецепторами человека CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10, CMKLR1, CXCR3R1, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR6, CXCR7 и XCR1;

l) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, ингибирующего связывание CXCR5 с CXCL13.

м) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с CXCR5⁺ В-клетками человека с кажущейся аффинностью EC_{50} менее приблизительно 26 пМ, но не связывающегося с клетками, экспрессирующими ортологи CXCR5 мыши, крысы или кролика;

н) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, антагонистически действующего на ингибирование CXCL13 высвобождения цАМФ, запускаемого форсколином;

о) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, запускающего ADCC CXCR5-экспрессирующих клеток в РВМС человека-донора и яванского макака и ТМС человека-донора;

р) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с CXCR5 человека, но не связывающегося с хемокиновыми рецепторами человека CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10, CMKLR1, CXCR3R1, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR6, CXCR7 или XCR1;

q) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, истощающего В-клетки в периферической крови;

r) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, истощающего Tfh-подобные клетки в периферической крови;

s) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, истощающего истинные Tfh-клетки в селезенке; и

t) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, нарушающего гуморальный анамнестический иммунный ответ.

4. Антитело по любому из пп.1-3, где указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрируют по меньшей мере один из следующих видов биологической активности:

a) связывается с CXCR5⁺ В-клетками человека с кажущейся аффинностью EC₅₀ менее приблизительно 26 пМ, но не связывается с клетками, экспрессирующими ортологи CXCR5 мыши, крысы или кролика;

b) антагонистически действует на ингибирование CXCL13 высвобождения цАМФ, запускаемого форсколином;

c) запускает ADCC CXCR5-экспрессирующих клеток в PBMC человека-донора и яванского макака и TMC человека-донора;

d) связывается с CXCR5 человека, но не связывается с хемокиновыми рецепторами человека CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10, CMKLR1, CXCR3R1, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR6, CXCR7 или XCR1;

e) истощает В-клетки в периферической крови;

f) истощает Tfh-подобные клетки в периферической крови;

g) истощает истинные Tfh-клетки в селезенке; или

h) нарушает гуморальный анамнестический иммунный ответ.

5. Антитело по любому из пп.1-4, где указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является афукозилированным.

6. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1-5.

7. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая VH, VL или и ту, и другую антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, специфически связывающегося с CXCR5, где указанная нуклеиновая кислота содержит последовательность нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:95, последовательность нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:96 или и ту, и другую.

8. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая тяжелую цепь, легкую цепь или и ту, и другую антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, специфически связывающегося с CXCR5,

где указанная нуклеиновая кислота содержит последовательность нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:97, последовательность нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:98 или и ту, и другую.

9. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая VH, VL или и ту, и другую антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, специфически связывающегося с CXCR5,

где указанная нуклеиновая кислота содержит последовательность нуклеиновой кислоты вставки плазмиды, депонируемой в АТСС и имеющей регистрационный номер РТА-124323, последовательность нуклеиновой кислоты вставки плазмиды, депонируемой в АТСС и имеющей регистрационный номер РТА-124324, или и ту, и другую.

10. Вектор, содержащий нуклеиновую кислоту по любому из пп.6-9.

11. Клетка-хозяин, содержащая вектор по п.10.

12. Клетка-хозяин по п.11, где указанная клетка-хозяин является клеткой млекопитающего, выбранной из группы, состоящей из клетки CHO, клетки COS, клетки

HEK-293, клетки NS0, клетки PER.C6® или клетки Sp2.0.

13. Клетка-хозяин по п.12, где в указанной клетке отсутствует функциональная альфа-1,6-фукозилтрансфераза (FUT8).

14. Клетка-хозяин по п.13, где указанная клетка является клеткой Potelligent® CHOK1SV или клеткой Lec13 CHO.

15. Способ получения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий клетку Potelligent® CHOK1SV по п.14 в условиях, в которых указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент экспрессируются указанной клеткой-хозяином и являются афукозилированными.

16. Способ по п.15, дополнительно включающий выделение указанного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

17. Афукозилированное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п.15, где указанное антитело демонстрирует повышенную активность ADCC по сравнению с в остальном идентичным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, являющимся фукозилированным.

18. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1-5 и 17 и фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент.

19. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1-5, 17 и фармацевтическая композиция по п.18 для применения в лечении иммунологического заболевания, нарушения или состояния.

20. Применение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.1-5, 17 или фармацевтической композиции по п.18 для лечения иммунологического заболевания, нарушения или состояния.

21. Способ лечения или профилактики иммунологического заболевания, нарушения или состояния, опосредованного CXCR5, у больного, включающий введение индивидууму эффективного количества фармацевтической композиции по п.18, где указанное заболевание, нарушение или состояние выбрано из группы, состоящей из воспалительных ответов, таких как воспалительные заболевания кожи, включая псориаз и дерматит (например, атопический дерматит); дерматомиозита; системной склеродермии и склероза; ответов, ассоциированных с воспалительным заболеванием кишечника (таким как болезнь Крона и язвенный колит); респираторного дистресс-синдрома (включая респираторный дистресс-синдром взрослых; ARDS); дерматита; менингита; энцефалита; увеита; колита; гастрита; гломерулонефрита; аллергических состояний, таких как экзема и астма и другие состояния, включающие инфильтрацию Т-клетками и хронические воспалительные ответы; атеросклероза; дефицита адгезии лейкоцитов; ревматоидного артрита (RA); системной красной волчанки (SLE); сахарного диабета (например, сахарного диабета I типа или инсулинозависимого сахарного диабета); рассеянного склероза; синдрома Рейно; аутоиммунного тиреоидита; аллергического энцефаломиелимита; синдрома Шегрена; ювенильного диабета; и иммунных ответов, ассоциированных с острой и замедленной реакцией гиперчувствительности, опосредованных цитокинами и Т-лимфоцитами, как правило, обнаруживаемых при туберкулезе, саркоидозе, полимиозите, гранулематозе и васкулите; гранулематоза Вегенера; пернициозной анемии (болезни Аддисона); заболеваний, включающих диapedез лейкоцитов; воспалительного нарушения центральной нервной системы (ЦНС); синдрома полиорганной недостаточности; гемолитической анемии (включая, в качестве неограничивающих примеров, криоглобулинемию или аутоиммунной гемолитической анемии с неполными тепловыми агглютинами); миастении; заболеваний, опосредованных комплексами антиген-антитело; болезни анти-БМК-антител; антифосфолипидного синдрома; аллергического неврита; болезни Грейвса;

миастенического синдрома Ламберта-Итона; буллезного пемфигоида; пемфигуса; аутоиммунных полиэндокринопатий; витилиго; болезни Рейтера; синдрома мышечной скованности; болезни Бехчета; гигантоклеточного артериита; иммунокомплексного нефрита; IgA-нефропатии; IgM-полинейропатий; иммунной тромбоцитопенической пурпуры (ИТП) или аутоиммунной тромбоцитопении и аутоиммунных гемолитических заболеваний; тиреоидита Хашимото; аутоиммунного гепатита; аутоиммунной гемофилии; аутоиммунного лимфопролиферативного синдрома (ALPS); аутоиммунного увеоретинита; синдрома Гийена-Барре; синдрома Гудпасчера; смешанного заболевания соединительной ткани; аутоиммунно-ассоциированного бесплодия; нодозного полиартериита; гнездной алопеции; идиопатической микседемы; реакции "трансплантат против хозяина"; мышечной дистрофии (дистрофии Дюшена, дистрофии Беккера, миотонической дистрофии, конечностно-поясной дистрофии, плече-лопаточно-лицевой дистрофии, врожденной дистрофии, окулофарингеальной дистрофии, дистальной дистрофии, дистрофии Эмери-Дрейфуса) и контроля пролиферации злокачественных клеток, экспрессирующих CXCR5, такой как рак поджелудочной железы, рак толстого кишечника, рак мочевого пузыря, Т-клеточный лейкоз и В-клеточный лейкоз.

22. Способ по п.21, где указанное заболевание является SLE или ревматоидным артритом.

23. Применение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.1-5, или 17 для получения лекарственного средства для лечения иммунологического заболевания, нарушения или состояния.

24. Способ детекции CXCR5 в образце, ткани или клетке с использованием антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.1-5, включающий приведение образца, ткани или клетки в контакт с антителом и детекцию антитела.

25. Способ снижения биологической активности CXCR5 у больного, включающий введение терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.1-5 или 17 или фармацевтической композиции по п.18.

26. Способ по п.25, где антитело опосредует истощение по меньшей мере одной клетки, экспрессирующей CXCR5, выбранной из группы, состоящей из Tfh-клетки в селезенке, В-клетки в периферической крови и Tfh-подобной клетки в периферической крови.

27. Способ ингибирования гуморального иммунного ответа у больного, включающий введение терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.1-5 или 17 или фармацевтической композиции по п.18.

28. Способ по п.27, где антитело опосредует истощение по меньшей мере одной клетки, экспрессирующей CXCR5, выбранной из группы, состоящей из Tfh-клетки в селезенке, В-клетки в периферической крови и Tfh-подобной клетки в периферической крови.