

ОБЗОРЫ

Биспецифические антитела в клинике и клинических исследованиях (обзор литературы)

О.Н. Солопова, В.А. Мисюрин

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Каширское ш., д. 24, Москва, Российская Федерация, 115478

РЕФЕРАТ

Лечебные моноклональные антитела давно уже стали важным инструментом в руках врачей разных специальностей, прежде всего онкологов. Появление биспецифических антител открыло новые горизонты для лечения рака, стало возможным привлечение собственного иммунитета пациента к борьбе с опухолью. В данном обзоре рассматриваются все форматы и стратегии, использованные при разработке биспецифических антител, дошедших до стадии клинических исследований, а также доступные результаты этих клинических исследований.

Ключевые слова: биспецифические антитела, блинатумомаб, катумаксомаб, эмицизумаб, клиническое исследование.

Получено: 13 августа 2018 г.

Принято в печать: 22 января 2019 г.

Для переписки: Всеволод Андреевич Мисюрин, канд. биол. наук, Каширское ш., д. 24, Москва, Российская Федерация, 115478; тел. +7(985)436-30-19; e-mail: vsevolod.misyurin@gmail.com

Для цитирования: Солопова О.Н., Мисюрин В.А. Биспецифические антитела в клинике и клинических исследованиях (обзор литературы). Клиническая онкогематология. 2019;12(2):125–44.

DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-2-125-144

ВВЕДЕНИЕ

Моноклональные антитела давно уже стали важным инструментом в руках врачей разных специальностей: онкологов, ревматологов, аллергологов, инфекционистов и др. Их применение постоянно расширяется. Если в конце 2013 г. на рынке было 46 зарегистрированных препаратов на основе моноклональных антител, то к середине 2018 г. их количество почти удвоилось [1, 2].

Большинство природных антител класса IgG имеют два антигенсвязывающих центра, соответственно

REVIEWS

Bispecific Antibodies in Clinical Practice and Clinical Trials (Literature Review)

ON Solopova, VA Misyurin

NN Blokhin National Medical Cancer Research Center, 24 Kashirskoye sh., Moscow, Russian Federation, 115478

ABSTRACT

Therapeutic monoclonal antibodies have long been an effective tool deployed by physicians of different specialties, particularly by oncologists. Bispecific antibodies opened up new horizons in the treatment of cancer as they allow to involve a patient's endogenous immunity in his or her fight against tumor. The present review covers all the formats and strategies used in engineering of bispecific antibodies which reached the stage of clinical trials and also focuses on the available results of these clinical trials.

Keywords: bispecific antibodies, blinatumomab, catumaxomab, emicizumab, clinical trial.

Received: August 13, 2018

Accepted: January 22, 2019

For correspondence: Vsevolod Andreevich Misyurin, PhD in Biology, 24 Kashirskoye sh., Moscow, Russian Federation, 115478; Tel.: +7(985)436-30-19; e-mail: vsevolod.misyurin@gmail.com

For citation: Solopova ON, Misyurin VA. Bispecific Antibodies in Clinical Practice and Clinical Trials (Literature Review). Clinical oncohematology. 2019;12(2):125–44 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-2-125-144

такие антитела имеют две идентичные легкие и две идентичные тяжелые цепи (рис. 1, А). Конструирование антител с разными антигенсвязывающими активностями открывает принципиально новый функционал таких молекул: привлечение к опухоли цитотоксических клеток и реагентов, одновременное ингибирование разных сигнальных путей, цитокинов и др. Такие биспецифические антитела имеют разные антигенсвязывающие домены, что порождает проблему правильного комбинирования легких и тяжелых цепей при их получении. Эту проблему можно условно разделить на две части: 1) образование гетеродимеров

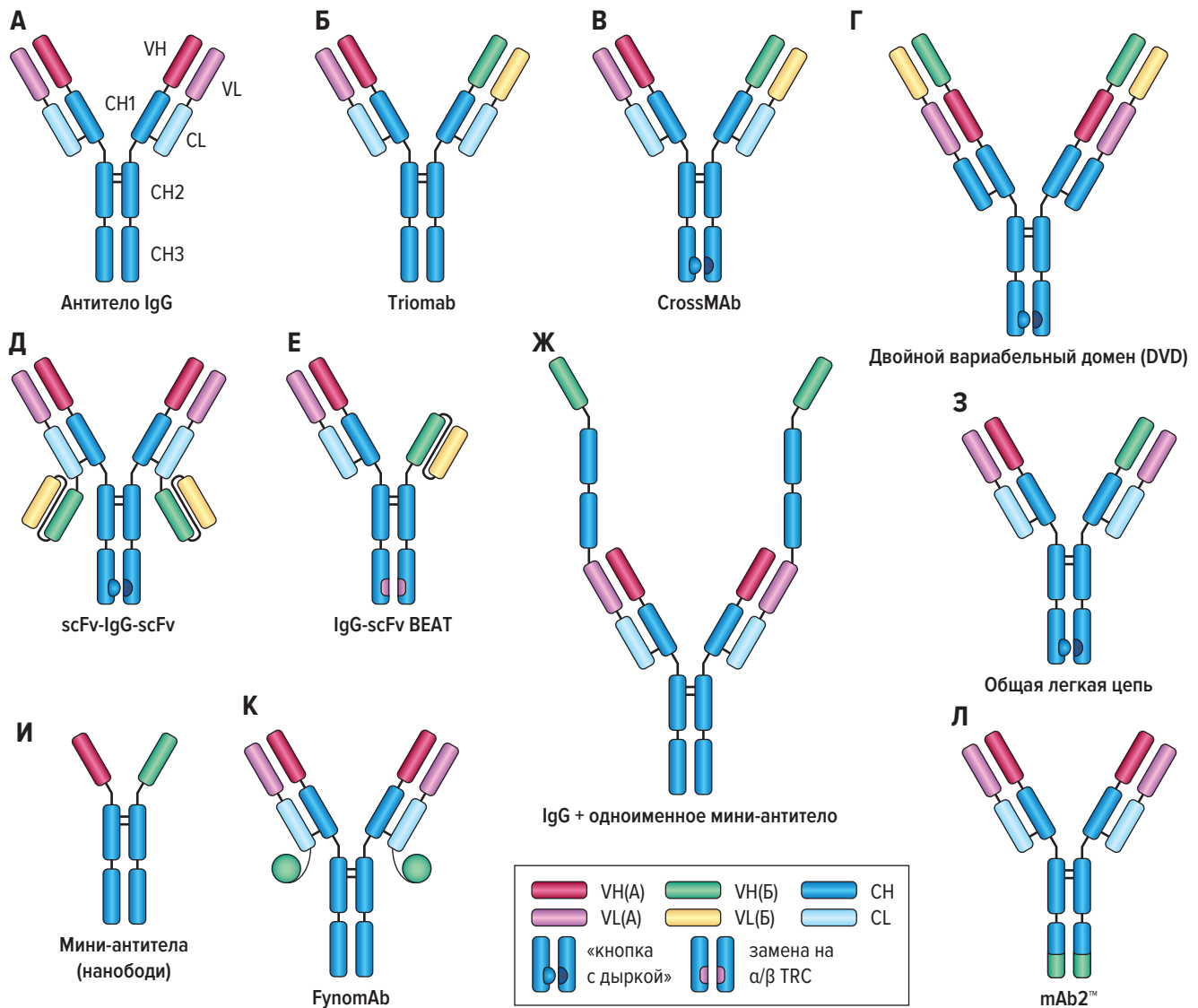


Рис. 1. Форматы биспецифических антител, содержащих Fc-фрагменты

CH — heavy-chain constant domain; CL — light-chain constant domain; scFv — одноцепочечный переменный фрагмент; TCR — T-клеточный рецептор; VH — переменный домен тяжелой цепи; VL — переменный домен легкой цепи.

Fig. 1. Formats of bispecific antibodies containing Fc-fragments

CH — heavy-chain constant domain; CL — light-chain constant domain; scFv — single chain variable fragment; TCR — T-cell receptor; VH — heavy-chain variable domain; VL — light-chain variable domain.

тяжелых цепей антитела и 2) соединение легкой и тяжелой цепей одной специфичности.

Проблема образования гетеродимеров тяжелых цепей на практике решается в несколько приемов.

1. Получают смесь гомо- и гетеродимеров антител, у которых тяжелые цепи принадлежат к разным субизотипам, например IgG2a и IgG2b. Затем из смеси выделяют антитела, имеющие тяжелую цепь G2a, а также другую цепь — G2b. Такая стратегия реализована в разработке антител формата Triomab (рис. 1, Б) [3].
2. Для преимущественного спаривания разных тяжелых цепей во многих форматах применяют стратегию «кнопка с дыркой». Для этого на Fc-фрагменте одной из цепей делают замену одной аминокислоты на другую, более крупную, т. е. формируют «кнопку», а на второй — в аналогичной позиции меняют на более мелкую, т. е. делают «дырку» (рис. 1, В, Г, Д, З) [4].

3. В последовательности тяжелых цепей вносят более глубокие изменения, делающие затруднительным образование гомодимеров: вставляют последовательности белков, взаимодействующих в природе друг с другом (рис. 1, Е), либо определяют архитектуру взаимодействующих областей тяжелых цепей и мутациями изменяют ее для лучшего взаимодействия цепей разной специфичности.

Проблема соединения легких цепей со «своими» тяжелыми цепями еще более сложная. Способы ее решения для разных форматов антител рассматриваются ниже.

Биспецифические антитела уже показали в клинике свои преимущества перед моноспецифическими. Например, антитело блинатумомаб имеет самую высокую эффективность среди всех противоопухолевых препаратов на основе антител, при этом дозировки составляют несколько сотен микрограммов на весь курс

лечения, тогда как для терапии моноспецифическими антителами требуется 5–20 г антител на 1 пациента в год. Неудивительно, что многие фармацевтические компании ведут сейчас разработку собственных биспецифических антител и уже более 70 из них дошли до стадии клинических исследований (см. табл. 1 в конце статьи).

В настоящем обзоре рассматриваются форматы, использовавшиеся для разработки этих биспецифических антител, а также опыт их клинического применения. Представлены идентификационные номера клинических исследований, зарегистрированных на сайте ClinicalTrials.gov.

АНТИТЕЛА ФОРМАТА Triomab

Первые биспецифические антитела были получены более 35 лет назад путем соматической гибридизации гибридных клеток, продуцирующих антитела разной специфичности [5]. Первое зарегистрированное для клинического применения биспецифическое антитело катумаксомаб получали именно так: гибридизовали мышиную гибридому НО-3, продуцирующую моноклональные антитела класса IgG2a против ЕрСАМ, и крысиную гибридому, продуцирующую антитела IgG2b против CD3. Полученная таким образом квадрама продуцировала иммуноглобулины с разной комбинацией тяжелых и легких цепей, но преимущественно собирались молекулы со спаренными тяжелыми и легкими цепями одной видовой принадлежности — мышиные с мышиными и крысиные с крысиными [3]. За счет различий в субизотипах тяжелых цепей и видовой принадлежности легких цепей из смеси иммуноглобулинов выделяли требуемые гибриды — полноразмерные антитела, у которых одна половина происходила от исходного анти-ЕрСАМ-антитела, а вторая — от анти-CD3-антитела (см. рис. 1, Б). Такая технология получения биспецифических антител получила название Triomab® и была реализована компанией TRION RESEARCH (Германия) для разработки еще нескольких биспецифических антител, два из которых находятся сейчас на стадии клинических исследований: анти-HER2/neu (эртумаксомаб), анти-CD20 (FBTA05) [6]. Triomab означает тройную функциональность молекулы: связывание с помощью Fab-фрагментов опухоль-ассоциированного антигена и молекулы CD3 на Т-лимфоцитах, а также связывание с помощью Fc-фрагмента эффекторных клеток (моноцитов, макрофагов, естественных киллеров, дендритных клеток и др.).

Всего проведено 16 клинических исследований препарата катумаксомаб, 14 из них завершено, 1 исследование остановлено по причине нехватки препарата [7] и еще 1 — из-за серьезных побочных последствий при внутривенном введении [8]. Исследования проводили с участием пациентов с раком яичников и вызванным им опухольным асцитом, с аденокарциномой желудка и другими ЕрСАМ-позитивными злокачественными опухолями. В результате препарат был зарегистрирован Европейским медицинским агентством в 2009 г. для лечения больных с асцитом, вызванным прогрессированием онкологических забо-

леваний органов женской репродуктивной системы, путем введения его в перитонеальную полость после удаления асцитической жидкости. Пациентам, получавшим катумаксомаб после дренажа перитонеальной полости, повторный дренаж требовался в среднем через 46 дней в отличие от пациентов без введения катумаксомаба (повторный дренаж требовался в среднем через 11 дней) [9]. При этом наилучший клинический ответ наблюдался после 4 инфузий катумаксомаба в общей дозе 230 мкг, тогда как для противоопухолевой терапии моноспецифическими антителами требуются десятки граммов антител.

Второе антитело формата Triomab, FBTA05, оказалось не столь успешным. Единственное клиническое исследование I–II фазы было остановлено по решению разработчика на стадии набора участников [10, 11].

Изучение третьего антитела, эртумаксомаба, было начато в 4 клинических исследованиях I–II фазы при раке молочной железы и других HER2-позитивных опухолях. Все они были остановлены [12]. По некоторым из исследований имеются результаты. Так, исследование I фазы NCT00522457 проводили у 17 пациентов с раком молочной железы, у 15 из них исследование было завершено. Препарат вводился путем внутривенных инфузий в увеличивающихся дозах от 10 до 200 мкг. У групп пациентов с дозой более 100 мкг наблюдали выраженный иммунный ответ. В целом переносимость препарата была удовлетворительной. Из 15 пациенток у одной наблюдали полную ремиссию, у 2 — частичную и у 2 — стабилизацию болезни. Несмотря на обнадеживающие результаты, компанией было принято решение прекратить дальнейшую разработку этого препарата. Причину такого решения компания TRION не объяснила, и можно только предположить, что внутривенное введение мышиных/крысиных антител не отвечает требованиям безопасности пациентов. Все исследования биспецифических антител формата Triomab с внутривенным введением препаратов были остановлены. Кроме того, по-видимому, стабильность продуцентов антител этого формата недостаточно высокая для получения промышленных количеств препарата. Например, одно из исследований антитела катумаксомаб было остановлено по причине его нехватки.

АНТИТЕЛА ФОРМАТА BiTE

Второе биспецифическое антитело, зарегистрированное в качестве лекарственного средства, было получено по технологии BiTE (Bispecific T cell Engager) компанией Amgen (США). Два одноцепочечных вариабельных Fv-фрагмента (scFv) соединили гибкими линкерами, содержащими повторы глицина-серина (рис. 2). Короткий линкер предотвращает неправильное спаривание внутри цепочки, но не между цепочками. Длинный гибкий линкер позволяет антигенсвязывающим участкам свободно вращаться. Антитело блинатумомаб предназначено для лечения острого В-лимфобластного лейкоза (В-ОЛЛ) путем формирования цитолитического клеточного синапса Т-лимфоцитов и CD19-экспрессирующих В-лимфоцитов. В результате такого синапса

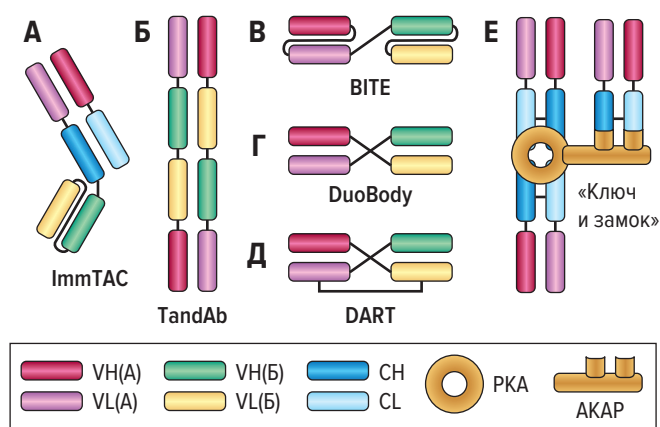


Рис. 2. Форматы биспецифических антител, не содержащих Fc-фрагменты

AKAP — белок, захватывающий киназу A; CH — константный домен тяжелой цепи; CL — константный домен легкой цепи; PKA — протеинкиназа A; VH — переменный домен тяжелой цепи; VL — переменный домен легкой цепи.

Fig. 2. Formats of bispecific antibodies not containing Fc-fragments
AKAP — A-kinase anchoring protein; CH — heavy-chain constant domain; CL — light-chain constant domain; PKA — protein kinase A; VH — heavy-chain variable domain; VL — light-chain variable domain.

T-лимфоцит пролиферирует и секретирует различные цитокины, такие как фактор некроза опухолей α (ФНО- α), интерферон- γ (ИФН- γ), интерлейкины (ИЛ-6, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10), а также цитотоксические белки (гранзимы, перфорины и др.), приводящие к лизису опухолевых клеток [13]. Блинатумомаб способен направлять T-лимфоциты на CD19-положительные опухолевые клетки при очень низкой концентрации (10–100 пг/мл). Блинатумомаб — мышинное антитело, его время полужизни в сыворотке составляет менее 2 ч, поэтому пациентам препарат вводят через имплантированную инфузионную систему в течение нескольких дней. Эффект от лечения наблюдается у 43 % пациентов — результат, недоступный для препаратов на основе моноспецифических антител [14]. Однако блинатумомаб имеет и недостатки: нейротоксичность и синдром высвобождения цитокинов. Из-за низкой молекулярной массы блинатумомаб быстро элиминируется почками и пациенты вынуждены менять мешок для инфузии каждые 48 ч [15]. Кроме того, может развиваться невосприимчивость к препарату вследствие либо потери опухоли CD19, либо экстрамедуллярного рецидива, либо из-за положительной регуляции опухоли сигнального пути программируемой гибели (PD-1) [16].

К настоящему времени зарегистрировано 48 клинических исследований блинатумомаба, в т. ч. 36 — в стадии подготовки или набора участников, 4 — активных, 7 — завершенных и 1 — остановленное. В завершенном исследовании, проводившемся в группе больных В-ОЛЛ с филадельфийской хромосомой, полная ремиссия получена у 36 % участников после 2 циклов введения препарата, тогда как присутствие филадельфийской хромосомы означает плохой прогноз для ее носителей. Следует отметить, что для исследования отбирались пациенты, имеющие резистентность к ингибиторам тирозинкиназы второго поколения и выше [17]. В целом во всех завершенных

исследованиях наблюдали терапевтический эффект от применения блинатумомаба. Доля пациентов, достигших полной ремиссии после 2 или более циклов терапии, была в пределах 20–80 % в зависимости от дозы препарата, количества курсов, диагноза и осложнений. Единственное остановленное исследование касается сравнения терапии блинатумомабом и стандартной химиотерапии, его результаты опубликованы [18]. Частота полных ремиссий после лечения блинатумомабом и стандартной терапии составила 44 и 25 % соответственно. Медиана продолжительности жизни после начала лечения в группе блинатумомаба была в 1,92 раза выше по сравнению с контрольной, а доля серьезных побочных явлений — несколько ниже (87 vs 92 % в контрольной группе). Очевидно, что исследование было остановлено не из-за отсутствия эффективности препарата или из соображений безопасности.

Кроме блинатумомаба еще 8 антител формата BiTE достигли стадии клинических исследований. Все они также направлены против CD3 и какого-либо опухолевого антигена. Антитела MT110 (солитомаб), MT111 (MEDI-565) и MT112 (BAY2010112) специфичны против опухолевых антигенов ЕрсАМ (эпителиального специфического молекулы адгезии САМ), СЕА (раково-эмбрионального) и PSMA (простат-специфического мембранного) соответственно. Они предназначены для лечения солидных опухолей: MT110 для ЕрсАМ-положительных, MT111 для опухолей желудочно-кишечного тракта и MT112 для лечения рака простаты. Для каждого из этих антител проведено по 1 клиническому исследованию (см. табл. 1). Исследование MT110 завершено более 3 лет назад, но результаты до сих пор не опубликованы. Возможно, после успеха блинатумомаба антитело MT110 не смогло продемонстрировать подобную эффективность по каким-либо из следующих причин: а) антитело не успевает проникнуть в структуру солидных опухолей из-за своей малой продолжительности циркуляции в кровотоке; б) рецептор ЕрсАМ при связывании очень быстро интернализируется и T-лимфоциты не успевают подействовать на клетку; в) доступ цитотоксических T-лимфоцитов в солидные опухоли затруднен [19]. Результаты исследования антитела MEDI-565 опубликованы, и они неутешительны: никакого клинического эффекта не обнаружено [20]. Исследование антитела BAY2010112 еще не завершено, предварительные результаты недоступны.

Самые современные антитела формата BiTE предназначены для терапии как солидных, так и гематологических опухолей. Антитела AMG330 и AMG673 направлены против рецептора миелоидных клеток CD33 и предназначены для лечения острых миелоидных лейкозов (ОМЛ) [21]. Антитело AMG701 связывает поверхностную молекулу зрелых В-лимфоцитов ВСМА и разработано для лечения множественной миеломы (ММ). С помощью антитела AMG596 предполагается лечить EGFRvIII-положительную глиобластому, поскольку оно направлено против EGFRvIII, а с помощью антитела AMG757 — немелкоклеточный рак легкого через взаимодействие с трансмембранным лигандом DLL4, относящимся к семейству Notch-лигандов [22].

DLL4 является относительно новой мишенью в терапии онкологических заболеваний. Он задействован в поддержании и пролиферации раковых стволовых клеток, а также в процессах ангиогенеза [23]. Для каждого из этих пяти антител зарегистрировано по 1 клиническому исследованию, все они находятся на стадии набора участников.

ДРУГИЕ АНТИТЕЛА — ОДНОЦЕПОЧЕЧНЫЕ Fv-ФРАГМЕНТЫ

Компания GEMoaB Monoclonals GmbH (Германия) разработала биспецифическое антитело в виде scFv — GEM333. Это антитело, как и блинатумомаб, является активатором Т-лимфоцитов и направлено против CD3. Вторая его специфичность касается поверхностной молекулы клеток миелоидного ряда CD33 [24]. Этим определяется его назначение — терапия ОМЛ. В отличие от полностью мышинового блинатумомаба GEM333 является гуманизированным антителом. Кроме того, разработчики изначально планировали введение больным не антитела в чистом виде, а его продуцента во избежание непрерывных и продолжительных инфузий. Был разработан продуцент антитела на основе мезенхимных стромальных клеток (МСК) человека. В клетки SCP-1 (иммортилизованная линия МСК) был встроен лентивирусный вектор с последовательностями scFv и необходимыми линкерами. Предполагается, что пациенту достаточно 1 раз ввести эту линию и лекарственное средство будет поступать в кровоток постоянно. МСК были выбраны из-за их низкой иммуногенности, кроме того, они не вызывают реакцию «трансплантат против хозяина». Совсем недавно было начато первое клиническое исследование GEM333, антитело предполагается вводить пациентам с ОМЛ в виде 10-дневных непрерывных инфузий. Неизвестно, отказалась ли компания от идеи введения продуцента больным, или предполагает собрать больше данных о фармакодинамике самого антитела.

Антитело gM28 было разработано в Университете Тюбингена (Германия). От антител формата ViTE оно отличается последовательностью линкеров и экспрессионной системой: оно нарабатывается в крови трансгенных коров, полученных по методу, описанному L. Grosse-Hovest и соавт. [25]. Специфичность антитела gM28 — CSPG4хCD28, где CSPG4 (меланома/глиобластома-ассоциированный поверхностный хондроитинсульфат протеогликан 4), а CD28 — поверхностная молекула Т-лимфоцита. Авторы утверждают, что антитело действует как агонист для Т-лимфоцитов и может их активировать даже в отсутствие CD3 и Т-клеточного рецептора (TCR) [26]. Единственное исследование gM28 у больных меланомой было завершено более 5 лет назад, но результаты не опубликованы до настоящего времени.

БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА С ОБЩЕЙ ЛЕГКОЙ ЦЕПЬЮ

Третьим в хронологическом порядке зарегистрированным биспецифическим антителом является

эмицизумаб, разработанный японской компанией Chugai Pharmaceutical. Препарат предназначен для предотвращения кровотечений при гемофилии А. Антитело связывается с активированным фактором свертывания IX и с неактивированным фактором X, вследствие этого фактор X активируется и процесс свертывания крови продолжается. Фактически антитело эмицизумаб выполняет функцию фактора свертывания VIII, отсутствующего у больных гемофилией А [27]. Эмицизумаб следует вводить подкожно 1 раз в неделю в начальной дозе 3 мг/кг и поддерживающих дозах 1,5 мг/кг для профилактики кровотечений. Препарат был зарегистрирован Управлением по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA) в конце 2017 г. по результатам единственного законченного клинического исследования и промежуточным результатам текущих исследований. Количество кровотечений у пациентов, получавших эмицизумаб, было на 87 % ниже по сравнению с контрольной группой [28]. К настоящему времени по препарату эмицизумаб зарегистрировано 9 активных клинических исследований.

Эмицизумаб представляет собой полноразмерное гуманизированное антитело IgG4, гетеродимер тяжелых цепей, соединенных по технологии «кнопка с дыркой» и общей легкой цепью (см. рис. 1, 3) [29]. Ранее было показано, что в связывании антигена главную роль играет Fv-фрагмент тяжелой цепи, поэтому замена легкой цепи не всегда приводит к драматичному снижению аффинности антитела [30]. Последовательность общей легкой цепи была выбрана из нескольких десятков вариантов по принципу наилучшего воспроизведения функции фактора VIII. Для осуществления этой функции не требуется высокой аффинности антитела по отношению к факторам IX и X.

По такой же технологии разработано еще одно антитело компании Chugai, дошедшее до стадии клинических исследований, — ERY974. Это антитело специфично против поверхностной молекулы опухоли Gluriscan 3 и предназначено для лечения Gluriscan 3-позитивных солидных опухолей [31]. Gluriscan 3 является онкофетальным антигеном, супрессированным в нормальных тканях взрослых. Вторая специфичность антитела направлена против CD3 и, подобно антителам формата ViTE, призвана направлять цитотоксические Т-лимфоциты к опухоли. Единственное клиническое исследование антитела ERY974 находится на стадии набора участников.

БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА — ХИМИЧЕСКИЕ КОНЬЮГАТЫ Fab-ФРАГМЕНТОВ

Большая группа биспецифических антител, дошедшая до этапа клинических исследований, разработана путем химического конъюгирования Fab-фрагментов. Fab-фрагменты разной специфичности нарабатываются по отдельности, модифицируются и объединяются с помощью химических реагентов. По такой технологии были получены антитела BSAB-LO24, MDX447 и MDX-H210 от компании Medarex (США). Все три

антитела имеют одну из специфичностей против CD64 (поверхностной молекулы макрофагов и моноцитов) и призваны привлекать макрофаги и моноциты к опухолевым клеткам. Препараты предполагается вводить в сочетании с гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (ГМ-КСФ), поскольку в присутствии этого цитокина CD64 появляется на гранулоцитах [32]. Антитело BSAB-L024 направлено против CD19 и предназначено для лечения неходжкинских лимфом (НХЛ). Единственное клиническое исследование по этому антителу было остановлено из-за высокой токсичности препарата, вызванной «цитокиновым штормом» [33]. Второе антитело, MDX447, направлено против рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) и предназначено для лечения опухолей ЦНС. Клиническое исследование этого антитела показало, что оно хорошо переносится только без одновременного введения ГМ-КСФ [34]. У группы пациентов, получавших MDX-447 с ГМ-КСФ, исследование было остановлено. Полного или частичного ответа на лечение не получено ни в одной из групп. Еще одно антитело, MDX-H210, было разработано для лечения рака простаты и клинически изучено почти 20 лет назад. Результаты исследования показали удовлетворительную переносимость препарата в сочетании с ГМ-КСФ и эффективность в виде снижения уровня простатического специфического антигена в крови пациентов [35]. Однако продолжения работы с этим препаратом не последовало.

Другая группа антител такого формата была разработана и исследована компанией Barbara Ann Karmanos Cancer Institute (США). В этом институте были приготовлены химические конъюгаты полно-размерных антител против CD3 и против хорошо валидированных опухолевых мишеней: HER2, EGFR, GD2 и CD20. При этом в качестве антитела против CD3 выбрали ОСТ3. В качестве противоопухолевых антител уже использующиеся в медицинской практике: трастузумаб, цетуксимаб, динутуксимаб и ритуксимаб — путем получения биспецифических антител HER2Bi-aATC, EGFRBi-aATC, GD2Bi-aATC и CD20Bi соответственно [36]. Введение антител предлагалось сочетать с клеточной терапией. Из крови пациента выделяли мононуклеарные клетки, с помощью цитокина ИЛ-2 нарабатывали *in vitro* Т-лимфоциты, которые и инкубировали затем с одним из перечисленных биспецифических антител в зависимости от нозологии опухоли и вводили вновь пациенту в количестве 5–10 млрд клеток. Антитела использовались из расчета 50 нг на 1 млн клеток. Из этих четырех антител только по CD20Bi было завершено 2 клинических исследования. Для остальных трех антител клинические испытания находятся в стадии набора участников. Результаты завершенных клинических исследований к настоящему времени не опубликованы [37].

АНТИТЕЛА, КОНЪЮГИРОВАННЫЕ С ПОЛИМЕРНЫМИ ГРАНУЛАМИ PLGA

С появлением биоразлагаемого разрешенного для внутривенного введения полимера на основе PLGA

стало возможным приготовление наночастиц с антителами разной специфичности [38]. Одно из таких антител было разработано и доведено до клинических исследований компанией Benhealth Biopharmaceutical (Китай). Антитело с помощью своей CD3-связывающей активности должно активировать и привлекать цитокин-индуцированные киллеры (ЦИК) к опухоли, имеющей на своей поверхности молекулу муцина 1 (MUC1). ЦИК — это гетерогенная популяция эффекторных Т-клеток CD3⁺CD8⁺, которые могут быть получены из периферической крови, а также из пуповинной крови и костного мозга [39]. ЦИК способны убивать опухолевые клетки, используя механизмы FasL и перфорины (гранзимы) [40]. ЦИК состоят из фракций CD56-позитивных и CD56-негативных клеток [41], причем Т-лимфоциты CD56⁺ считаются главной эффекторной субпопуляцией ЦИК. Помимо прямого цитотоксического действия на опухоль ЦИК способны воздействовать на иммунную систему через секрецию различных цитокинов, таких как ФНО- α , ИФН- γ и ИЛ-2, стимулируя таким образом системную противоопухолевую активность и иммунный Th1-ответ [42].

Этапы получения ЦИК: мононуклеарные клетки выделяют из цельной крови градиентным центрифугированием и инкубируют с ИФН- γ для активации макрофагов. Активированные макрофаги продуцируют ИЛ-12 и CD58/LFA-3-сигнал для созревания клеток CD56⁺ [43]. Через сутки после выделения мононуклеаров добавляют анти-CD3-антитела и ИЛ-2. Антитела обеспечивают митогенный сигнал для Т-клеток, поддерживаемый присутствием ИЛ-2 [44]. Культивируют в течение 3–4 нед., меняя каждые 2 дня ростовую среду с цитокинами, после этого клетки вводят пациенту в кровотоки. Поскольку ЦИК обладают пониженной аллореактивностью, возможно введение клеток, полученных от гетерологичных доноров.

Для привлечения ЦИК к опухоли в кровотоки вводят полимерные наночастицы с антителами против CD3 и муцина 1. Муцин 1 — крупный трансмембранный гликозилированный белок, экспрессируемый в 80 % злокачественных опухолей и способствующий их росту, метастазированию и развитию резистентности к гидрофобным цитостатикам [45]. В настоящее время проводится 6 клинических исследований на предмет эффективности методики при лечении опухолей печени, молочной железы, легкого, поджелудочной железы и колоректального рака. В одном из исследований ЦИК получали с использованием ингибитора PD-1. Все исследования находятся на стадии набора добровольцев.

АНТИТЕЛА ФОРМАТА TandAb

При разработке антител AFM11 и AFM13, получивших разрешение на клинические исследования, компания Affimed (Германия) использовала технологию TandAb-тандемных биспецифических антител. В таких антителах в одну цепь соединены две пары доменов VL и VH, при этом формируется антитело с четырьмя валентностями (см. рис. 2, Б). Антитело AFM13 имеет мышинный анти-CD30-домен, способный связывать по-

верхность клеток Березовского—Рид—Штернберга при лимфоме Ходжкина. Вторая специфичность антитела направлена против рецептора естественных киллеров (NK) — CD16A, связывание которого активирует NK и индуцирует лизис CD30-экспрессирующих клеток [46]. Антитело AFM11, подобно блинатумомабу, имеет мишени CD19 и CD3 и призвано направлять Т-лимфоциты на CD19-несущие клетки при НХЛ [47]. Для разработки AFM11 компания использовала собственные мышинные антитела против CD3 и CD19, которые подверглись процедуре гуманизации и формирования аффинности. Авторы утверждают, что антитело AFM11 по аффинности и цитотоксической активности превосходит существующие антитела такой же специфичности формата BiTE.

Для антитела AFM13 имеется 1 завершённое клиническое исследование I фазы, показавшее хорошую переносимость и эффективность препарата. Из 26 пациентов с лимфомой Ходжкина у 3 наблюдали частичный ответ на лечение и еще у 13 — стабилизацию болезни. В настоящее время проводится 1 исследование этого антитела, а еще 2 находятся в стадии набора участников. Для антитела AFM11 начато 2 клинических исследования.

АНТИТЕЛА ФОРМАТА DART

Формат DART (dual-affinity retargeting) был разработан компанией MacroGenics (США) для антител MGD006 (флотетузимаб), MGD007, MGD010 и MGD013 (см. рис. 2, Д). В антителах MGD006 и MGD007 реализуется стратегия направления на опухоль Т-лимфоцитов с помощью анти-CD3-связывающей активности. Антитело MGD006 направляет Т-лимфоциты к молекуле CD123 или α-цепи рецептора ИЛ-3, часто экспрессирующегося при различных онкогематологических заболеваниях, в т. ч. при миелодиспластическом синдроме [48, 49]. Для антитела MGD007 мишенью является молекула gpA33, присутствующая на клетках колоректального рака [50, 51]. Для каждого из этих антител зарегистрировано по 2 исследования, которые находятся на этапе набора участников.

Для антитела MGD013 набор участников проходит в единственное клиническое исследование. В нем планируется изучить безопасность и эффективность у пациентов с поздними формами злокачественных солидных и гематологических опухолей. Антитело призвано блокировать сразу два ингибиторных сигнальных пути, позволяющих опухолям уходить от иммунного надзора, — PD-1 и LAG-3 [52].

Наконец, антитело MGD010 также разработано для блокады двух негативных регуляторных рецепторов. Эти рецепторы CD32B и CD79B присутствуют на В-лимфоцитах, а их блокада приводит к угнетению функций В-лимфоцитов. Антитело предназначено для лечения аутоиммунных заболеваний, но изучалось у здоровых добровольцев, главным образом, с целью изучить его безопасность и фармакокинетику. Активность препарата исследовали косвенно, изучая иммунный ответ на введение вакцины против гепатита В. На Европейском ревматологическом конгрессе 2017 г. компания доложила, что препарат показал хорошую переносимость и фармакологическую ак-

тивность, выразившуюся в уменьшении экспрессии В-клеточных рецепторов на наивных В-лимфоцитах и клетках памяти, а также в снижении экспрессии CD40 и уровня циркулирующего IgM [53].

Видоизмененный формат DART использовала компания Pfizer (США) для разработки собственного антитела PF-06863135 [54]. Компания добавила к антителу DART Fc-фрагмент, получив таким образом антитело формата DART-Fc со специфичностями против BCMA и CD3 для лечения MM [55]. Наличие Fc-фрагмента призвано увеличить время циркуляции антитела в кровотоке и обеспечить присущие полно-размерному антителу эффекторные функции. В единственное клиническое исследование этого антитела в настоящее время проводится набор участников.

АНТИТЕЛА CrossMAb

При использовании технологии CrossMAb константный домен тяжелой цепи CH1 и константный домен легкой цепи CL меняют местами (см. рис. 1, В). Это способствует правильной сборке биспецифического антитела [56]. Данную стратегию компания Hoffmann-LaRoche (Швейцария) воплотила в пяти антителах: R06867461 (RG7716), R06958688 (RG7802), R05520985 (вануцизумаб), R07082859 и R07187797 (BFCR4350A). Антитела R06958688, R07082859 и R07187797 используют испытанную стратегию привлечения Т-лимфоцитов за счет связывания рецептора CD3 и отличаются только специфичностью по отношению к опухоли. R06958688 направлено к CEA, оно предназначено для лечения колоректального рака и других солидных опухолей. Антитело R07082859 связывает молекулу CD20 В-лимфоцитов и разработано для лечения В-клеточных НХЛ, а антитело R07187797 должно привлекать цитотоксические клетки к FCRH5-экспрессирующим опухолевым клеткам при MM. Для антитела R06958688 в настоящее время выполняется 2 клинических исследования и еще в одно проводится набор участников. Для антитела R07082859 проводится набор участников в 3 испытания, для антитела R07187797 — в 1.

Два других антитела компании Hoffmann-LaRoche, R06867461 и R05520985, предназначены для блокировки двух ангиогенных факторов: Ang-2 (ангиопоэтин) и VEGF (эпителиальный фактор роста сосудов) [57]. Антитело R06867461 изучали в 4 клинических исследованиях у пациентов с возрастной дегенерацией и диабетическим отеком сетчатки глаза [57], однако результаты исследований еще не опубликованы. Антитело R05520985, имея ту же направленность, что и предыдущее, изучалось на предмет безопасности и эффективности при колоректальном раке и других солидных опухолях в 4 клинических исследованиях, 2 из которых были завершены совсем недавно, и в 2 идет набор участников.

БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА КАК ИНСТРУМЕНТ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ

Идее адресной доставки каких-либо агентов к опухоли с помощью антител уже более 50 лет. В 1957 г.

была опубликована работа о введении радиоактивной метки в молекулу антитела с целью изучить опухолевые процессы *in vivo* [58]. В этой работе автор предлагает два способа введения метки: 1) иммунизируемым животным давали пищу с радиоактивными аминокислотами, а выделенные из их крови поликлональные антитела содержали радиоактивную метку в виде радиоактивного углерода или серы; б) антитела химическим путем конъюгировали с радиоактивной меткой; здесь в качестве радиоактивной метки встраивали либо йод прямым йодированием белка, либо серу в виде Р-азобензолсульфоната. Уже тогда обсуждалась возможность применения таких конъюгатов в лечебных целях.

Приблизительно для таких же целей, т. е. для определения локализации опухоли и для ее элиминации, в Garden State Cancer Center было получено биспецифическое антитело TF2. Это антитело было разработано с использованием технологии «ключ и замок» (см. рис. 2, E), одна из его специфичностей направлена против СЕА на поверхности опухолевых клеток, а вторая — против пептида HSG (гистамин-сукцинил-глицин). При попадании в кровоток TF2 аккумулируется в опухолевом очаге, а также в метастазах. После выведения антитела из крови пациенту вводят гаптен HSG или HSG-содержащий пептид IMP с меткой в виде ^{99m}Tc , либо ^{177}Lu , либо ^{90}Y , либо ^{111}In , либо ^{68}Ga , либо ^{131}I (все эти варианты присутствуют в клинических исследованиях). Выбор метки зависит от назначения антитела: это может быть диагностическая процедура перед хирургическим вмешательством либо лечебная для уничтожения опухоли.

Антитело Anti-CEA_xanti-DTPA, разработанное в Nantes University Hospital (Франция), действует по такому же принципу, что и TF2, но было получено с использованием иной технологии. Это полноразмерное антитело против СЕА, к каждой легкой цепи которого присоединен scFv антитела против гаптена DTPA (см. рис. 1, D).

Идея воздействовать на опухоль токсином, соединенным с антителом, не оставляет ученых с 1981 г. [59] и по настоящее время. Применительно к биспецифическим антителам она нашла отражение в виде антитела DT2219ARL, разработанного компанией Masonic Cancer Center (США). DT2219ARL представляет собой единую цепь, содержащую 2 scFv против поверхностных молекул В-лимфоцитов CD22 и CD19 с линкером между ними и первые N-концевые 389 аминокислот дифтерийного токсина [60, 61]. Обе специфичности этого антитела призваны соединяться с поверхностью опухолевых В-клеток, а эффектором является каталитический домен дифтерийного токсина. Первое клиническое исследование I фазы (NCT00889408) этого антитела уже завершено. Оно выявило хорошую переносимость препарата, из 25 пациентов у 2 был выявлен клинический ответ на препарат: у одного из них масса опухоли уменьшилась на 40 %, у другого — констатирована полная ремиссия. Нейтрализующие антитела к препарату были обнаружены у 30 % участников исследования [62]. Дифтерийный токсин, как и большинство белковых токсинов, чрезвычайно иммуногенен, что, по-видимому, делает иммуногенным и антитело

DT2219ARL. Его разработчики попытались исправить этот недостаток в другом своем биспецифическом антителе, 2219KDEL, отличающемся от предыдущего токсинным компонентом. Вместо дифтерийного токсина авторы использовали экзотоксин псевдомонады, у которого предварительно элиминировали В-эпитопы. Элиминацию В-эпитопов проводили точечным мутагенезом, их расположение выявляли с помощью мышиных нейтрализующих антител к токсину [63].

Биспецифические антитела способны доставлять не только отдельные молекулы к опухолевым клеткам, но и целые их «упаковки», например, в виде наночастиц (nanocell). По такому принципу действуют антитела TargomiRs и EGFR(V)-EDV. TargomiRs разработано компанией Asbestos Diseases Research Institute (Австралия) и имеет специфичности против EGFR и бактериального липополисахарида (LPS). С помощью антилипополисахаридной специфичности антитело связывается с покрытыми LPS наночастицами Ep Gene IC Delivery Vehicle или EDVTM, внутри которых находится действующее вещество — микроРНК, способная блокировать трансляцию онкогенов через комплементарное спаривание с мРНК [64, 65]. Антитело TargomiRs получено в виде одноцепочечной молекулы, состоящей из scFv двух антител. Единственное клиническое исследование I фазы препарата TargomiRs завершилось следующими результатами. Из 22 пациентов со злокачественной мезотелиомой плевры у 1 получен частичный ответ на препарат, у 15 достигнута стабилизация заболевания, у 6 опухоль прогрессировала [66].

Препарат EGFR(V)-EDV работает по такому же принципу с использованием наночастиц EDVTM, но вместо микроРНК внутри частиц помещают цитотоксические препараты: доксорубин, паклитаксел. Исследование EGFR(V)-EDV с паклитакселом показало неплохую переносимость препарата: из 28 участников из-за побочных явлений из исследования было выведено 6, из остальных 22 пациентов у 10 наблюдалась стабилизация заболевания, у 12 — прогрессирование [67].

АНТИТЕЛА ФОРМАТА DuoBody

Четыре антитела формата DuoBody[®] компании Genmab (Дания) находятся на этапе клинических исследований. Технология основана на природном явлении, при котором антитела класса IgG4 могут обмениваться своими половинками, образуя природные биспецифические антитела. Компания сделала этот процесс контролируемым путем внесения таких мутаций в СН3-антитела, при которых образуются преимущественно гетеродимерные молекулы. Технология была адаптирована также для антител других субклассов IgG. Созданные отдельно антитела двух специфичностей смешивали в специальных условиях и на выходе получали биспецифические антитела, составляющие более 95 % всех молекул антител [68].

Антитела DuoBody JNJ-63709178, JNJ-64007957 и JNJ-64407564 направлены против CD123, BCMA и GPRC5D соответственно и реализуют стратегию при-

вращения Т-лимфоцитов через связывание рецептора CD3. Все они разработаны для лечения гематологических опухолей: ОМЛ и ММ [69]. Для каждого из антител имеется 1 клиническое исследование в стадии набора участников.

Четвертое антитело, JNJ-61186372, было разработано для лечения немелкоклеточного рака легкого, оно призвано блокировать действие двух ростовых факторов: EGFR и с-Met. Клиническое исследование этого антитела планируется завершить в 2021 г. [70].

АНТИТЕЛА ФОРМАТОВ BEAT™ И XmAb®

Антитело GBR 1302 компании Glenmark Pharmaceuticals (Индия) выполнено в формате BEAT™. Оно достигло стадии клинических исследований в 2016 г. Направлено против молекул HER2 и CD3 и, как уверяют производители, способно уничтожать опухоли, устойчивые к герцептину, а также с невысокой экспрессией HER2 на поверхности. Антитело GBR 1342 разработано для лечения ММ и должно привлекать Т-лимфоциты к CD38-позитивным опухолевым клеткам. Для разработки антитела использовалась платформа BEAT™ [71]. Полученная таким образом молекула антитела имеет функциональный Fc-фрагмент, один Fab-фрагмент и scFv (см. рис. 1, E). Преимущественное образование гетеродимеров происходит не за счет технологии «кнопка с дыркой», а вследствие замены участка Fc-фрагмента каждого антитела на α/β - или γ/δ -локусы TCR — комплементарные фрагменты природных белков [72]. Клинические исследования для обоих антител находятся на стадии набора участников.

Платформа XmAb® используется компанией Хенсор (США) для получения не только биспецифических антител, но и других терапевтических антител. Суть такого подхода заключается в особой инженерии Fc-фрагмента. С помощью мутаций в определенных участках Fc-фрагмента повышают аффинность к неонатальному Fc-рецептору, увеличивая тем самым время циркуляции антитела в кровотоке. Путем внесения мутаций в участки, ответственные за связывание с другими Fc-рецепторами и комплементом, меняют спектр клеток, с которыми взаимодействуют антитела. Необходимые замены определяют *in silico*, исходя из пространственной структуры Fc-фрагмента [73]. Для получения биспецифических антител Хенсор использует похожую на BEAT стратегию: функциональный гетеродимерный Fc-фрагмент соединяют с Fab-фрагментом одной специфичности и с scFv другой специфичности. Образование гетеродимерных молекул также достигается с помощью мутагенеза Fc-фрагмента [74, 75].

Три из четырех находящихся в клинических исследованиях антител (XmAb13676, XmAb14045 и XmAb18087) направлены против CD3 и являются классическими активаторами Т-лимфоцитов против опухоли. Вторые специфичности антител направлены против CD20, CD123 и SSTR2 соответственно. Рецептор соматостатина 2-го типа (SSTR2) является новой мишенью для противоопухолевых препаратов, он экспрессируется в тканях мозга, почек и на поверх-

ности клеток глиобластомы [76], а также эндотелия сосудов, прилегающих к опухоли [77]. Четвертое антитело от Хенсор — XmAb20717 — разработано для блокирования двух ингибиторных сигнальных путей PD-1 и CTLA-4 и предназначено для терапии различных солидных опухолей. Все перечисленные антитела находятся в клинических исследованиях на стадии набора участников.

Антитело SAR156597 формата IgG-scFv от компании Sanofi (Франция) было разработано для лечения идиопатического легочного фиброза. Принцип действия антитела — блокирование двух цитокинов, вовлеченных в патогенез заболевания: ИЛ-13 и ИЛ-4. Результаты 2 завершённых клинических исследований официально не опубликованы, однако компания заявила, что не будет продолжать разработку этого антитела для лечения легочного фиброза [78]. В настоящее время проводится набор участников в клиническое исследование этого антитела для лечения диффузного системного склероза.

АНТИТЕЛО ФОРМАТА scFv-IgG-scFv

Антитело LY3164530 компании Eli Lilly (США) для лечения разных видов рака представляет собой полноразмерное антитело класса IgG4 против с-Met, тяжелые цепи которого слиты с scFv антитела против EGFR [79]. Единственное клиническое исследование по антителу было завершено в 2017 г., опубликованных результатов пока нет.

АНТИТЕЛА, СОДЕРЖАЩИЕ БЕЛОК НЕИММУНОГЛОБУЛИНОВОЙ ПРИРОДЫ

Компания Merrimack Pharmaceuticals (США) довела до стадии клинических исследований два антитела: ММ-111 и ММ-141. Эти антитела представляют собой тандемный белок сывороточного альбумина человека с 2 scFv [80]. Альбумин в составе молекулы призван увеличить время циркуляции препарата в крови. Антитело ММ-111 было разработано для лечения HER2-позитивных опухолей и направлено против опухолевых антигенов HER2 и HER3. Применение блокаторов HER2 не всегда дает желаемый клинический результат, что во многих случаях связано с активацией сигнального пути HER3. Ожидалось, что одновременное блокирование обоих рецепторов позволит преодолеть резистентность опухоли к моноспецифическим ингибиторам HER2. Всего было проведено 4 клинических исследования антитела ММ-111. В 2 из них изучалась безопасность антитела как монопрепарата и в сочетании с трастузумабом. Результаты показали удовлетворительную переносимость М-111. В третьем исследовании помимо безопасности изучалась противоопухолевая активность ММ-111 в сочетании с различными цитостатическими средствами [81]. Всего в исследовании участвовало 86 пациентов в 5 группах, из них у 1 наблюдали полную ремиссию, у 18 — частичную ремиссию и у 28 — стабилизацию болезни. Поскольку все пациенты получали также другие противоопухолевые препараты, оценить вклад

ММ-111 оказалось затруднительным. Четвертое исследование проводилось в сочетании с паклитакселом и остановлено из-за отсутствия эффекта.

Антитело ММ-141 было разработано для блокировки рецепторов HER3 и IGF-1R (инсулиноподобный фактор) на клетках солидных опухолей. Всего по антителу ММ-141 в настоящее время проводится 1 клиническое исследование, еще 1 — уже завершено и 1 — остановлено по решению разработчика. Причины остановки исследования не опубликованы, так же как и результаты остальных исследований [82, 83].

Компания Covagen (Швейцария) подвела к клиническим исследованиям антитело COVA322 против провоспалительных цитокинов ФНО- α и ИЛ-17А. Это антитело разработано по технологии FynomAb: к легким цепям полноразмерного антитела против ФНО- α адалимумабу добавлены последовательности белка-финомера, способного связывать требуемый антиген, в данном случае — ИЛ-17А (см. рис. 1, К). Финомер представляет собой SH3-домен Fyn-киназы, последовательность которого на 100 % консервативна у разных видов, не содержит цистеинов, имеет высокую стабильность и массу около 7 кДа. Связывание с нужным антигеном достигается с помощью направленного внесения мутаций в петли Src и RT и создания фаговой библиотеки. Единственное клиническое исследование COVA322 было остановлено по причине неудовлетворительного профиля безопасности препарата [84].

Препарат PRS-343 компании Pieris Pharmaceutical (США) можно назвать биспецифическим антителом лишь условно, хотя он и способен к одновременному связыванию двух рецепторов: опухолевого рецептора HER2 и рецептора цитотоксических Т-лимфоцитов CB137 или 4-1BB. PRS-343 представляет собой полноразмерное антитело против HER2, тяжелая цепь которого слита с белком антикалином — агонистом 4-1BB. Связываясь с Т-лимфоцитами через 4-1BB, антитело стимулирует их цитотоксическую активность преимущественно в местах локализации HER2-позитивной опухоли [85]. Единственное клиническое исследование этого препарата находится в стадии набора участников.

ФОРМАТ МИНИ-АНТИТЕЛА (НАНОБОДИ)

Нанободи (см. рис. 1, И) — самые маленькие антитела, существующие в природе. Они были обнаружены у лам и верблюдов и состоят только из тяжелой цепи массой всего 15 кДа. Нанободи способны связывать антиген в отсутствие легкой цепи. Во время конструирования биспецифических антител сначала получают нанободи разной специфичности и сшивают их коротким линкером [86]. В клинических исследованиях сейчас находятся два антитела компании Ablynx (Бельгия) и одно антитело компании Merck (США). Бельгийские антитела ATN-103 (озорализумаб) и ALX-0061 (вобаризумаб) предназначены для лечения ревматоидного артрита и направлены против хорошо валидированных мишеней этого заболевания: ФНО- α и ИЛ-6R соответственно. Вторая специфичность ATN-103 и ALX-0061 — сывороточный альбумин. Раз-

работчики таким образом попытались существенно увеличить срок циркуляции антител в крови. Все клинические исследования антитела ATN-103 завершены, компания доложила их результаты [87]. Антитело продемонстрировало эффективность и хорошую переносимость, однако исследования проводились в сравнении с плацебо, а не с другими блокаторами ФНО- α .

Антитело ALX-0061 также прошло несколько клинических исследований, одно из них было проведено в сравнении с моноспецифическим антителом против ИЛ-6R тоцилизумабом. По данным компании [88], ALX-0061 показало высокую эффективность по сравнению с тоцилизумабом: 60 % пациентов с ревматоидным артритом достигли ремиссии после 12 нед. лечения по сравнению с 43 % принимавших тоцилизумаб.

Антитело MSB0010841 компании Merck прошло 1 клиническое исследование при лечении псориаза, мишенями антитела стали провоспалительные цитокины ИЛ-17А и ИЛ-17F. Исследование проводилось в сравнении с плацебо и показало хорошую переносимость и эффективность препарата: улучшения по шкале PASI достигли все пациенты, получавшие препарат, в то время как подобный эффект был достигнут только у половины участников из группы плацебо. Из 33 пациентов, получавших препарат, 75%-го улучшения по шкале PASI достигло 32, но ни 1 из 8 пациентов, получавших плацебо, не имел подобного эффекта [89].

К этой же группе можно отнести антитело BCD-121 компании «Биокад» (Россия) для лечения ревматоидного артрита и других аутоиммунных заболеваний, хотя оно имеет несколько иную структуру (см. рис. 1, Ж). Антитело было разработано в виде полноразмерной гуманизированной молекулы IgG против ФНО- α , легкие цепи которой слиты с однодоменными укороченными наноантителами VHH против ИЛ-17А и ИЛ-17F (VHH-IgG-VHH). Таким образом, одна молекула биспецифического антитела способна связать две молекулы (два тримера) ФНО- α и две молекулы ИЛ-17 [90, 91]. Препарат изучался в 1 клиническом исследовании у 28 здоровых добровольцев. Оценивалась его безопасность и фармакокинетика, результаты исследования пока не опубликованы.

ПЛАТФОРМА Biclonics®

Платформа Biclonics® была разработана компанией Merus N.V. (Нидерланды) по технологии, защищенной патентами США (№ 9, 145, 588; 9, 248, 181; 9, 248, 182). Технология предполагает использование трансгенных мышей MeMo®, с помощью которых получают полностью человеческие антитела. Для всех биспецифических антител, созданных по технологии Biclonics®, используют общую легкую цепь. В клинических исследованиях находится три антитела. Антитело MCLA-117 разработано для лечения ОМЛ и направлено против CLEC12A и CD3. Путем взаимодействия с CD3 антитело привлекает Т-лимфоциты к стволовым опухолевым клеткам миелоидного ряда, несущим на себе молекулу CLEC12A [92]. Антитела MCLA-128 и MCLA-158 блокируют по два рецеп-

тора ростовых факторов на опухолях: HER2xHER3 и Lgr5xEGFR соответственно.

ПЛАТФОРМА VelociSuite

Антитело REGN1979 было разработано компанией Regeneron Pharmaceuticals (США) по технологии VelociSuite. Оно представляет собой типичный активатор Т-лимфоцитов для CD20-позитивных опухолей за счет специфичностей против CD3 и CD20 [93]. Технология VelociSuite представляет собой сочетание нескольких платформ, одна из которых (VelocImmune®) используется для получения полностью человеческих антител в трансгенных мышах, у которых локус иммуноглобулиновых генов размером в 6 млн пар нуклеотидов был заменен на соответствующий человеческий локус. Биспецифическое антитело было сконструировано с использованием стратегии общей легкой цепи, гетеродимеры тяжелой цепи выделяли из смеси гомодимеров и гетеродимеров на колонке с А-сефарозой. Для этого в Fc-фрагмент одной из специфичностей вносили аминокислотные замены, делающие невозможным его связывание с белком А. Таким образом, гомодимеры с этими заменами на колонке не задерживались. Оставшиеся гетеродимеры и гомодимеры без замен разделяли в градиенте pH [94]. По антителу начато 2 клинических исследования, результаты пока не получены.

ФОРМАТ DVD-Ig

Компания Onco Med Pharmaceuticals (США) представила для клинических исследований антитело OMP-305B83, разработанное по технологии DVD-Ig (см. рис. 1, Г) [95]. Антитело блокирует два сигнальных пути ангиогенеза — через связывание VEGF и трансмембранного лиганда эпителия сосудов DLL4, относящегося к семейству Notch-лигандов [96]. Антитело предназначено для лечения колоректального рака и других солидных опухолей. Зарегистрированы 1 активное клиническое исследование и 2 исследования, только еще набирающие участников.

ПЛАТФОРМА mAb2™

Платформа mAb2™ была разработана компанией F-star (Великобритания) по собственной технологии Modular Antibody Technology™ (см. рис. 1, Л). В полном размере гуманизованном антителе против PD-L1 CH3-домен Fc-фрагмента был частично заменен на последовательности, способные специфично связывать рецептор LAG3. Эти связывающие последовательности были получены с помощью дрожжевой библиотеки на основе Fc-фрагмента с рандомизированными участками 358–362, 413–415 и 418–419 аминокислотных остатков [97]. В итоге такой антигенсвязывающий Fc-фрагмент, названный Fcab, сохраняет все свои эффекторные функции, поскольку имеет интактный CH2-домен и может быть использован в конструировании биспецифических антител

[98]. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* антитело FS118 и другие разработанные по этой технологии антитела показывают хорошие результаты. Клиническое исследование FS118 пока находится в стадии набора участников.

ПЛАТФОРМА ImmTAC

Платформа разработана компанией Immunocore (Великобритания). Антитело IMCgp100, выполненное в формате ImmTAC, представляет собой легкую цепь Fab-фрагмента антитела против gp100 и рекомбинантный химерный белок тяжелой цепи Fab-фрагмента антитела против gp100 с scFv антитела против CD3 (см. рис. 2, А). При этом антитело против опухоли представлено Fab-фрагментом и имеет аффинность в пиколярном диапазоне, а анти-CD3-специфичность представлена scFv с аффинностью в наномолярном диапазоне [99]. Разработчики объясняют это тем, что более прочное связывание опухоли позволит антителу дольше оставаться на ее поверхности, а менее прочное связывание Т-лимфоцитов уменьшит побочные действия препарата.

Клинические исследования препарата показали его удовлетворительную переносимость и эффективность при меланоме [100, 101].

ПЛАТФОРМА Azymetric™

Платформа Azymetric™ была разработана канадской компанией Zymeworks. Ее суть состоит в том, что изучаются физико-химические характеристики и пространственные структуры тяжелой и легкой цепей двух антител, *in silico* определяются необходимые замены аминокислот, способствующие предпочтительной сборке гетеродимеров в продуценте. Технология позволяет получать полноразмерные биспецифические антитела с выходом более 90 % от общего количества антител [101]. По этой технологии для лечения HER2-позитивных опухолей было создано антитело ZW25, связывающее разные неперекрывающиеся эпитопы рецептора HER2. Авторы полагают, что антитело позволит лечить опухоли, резистентные к моноспецифическим блокаторам HER2. В единственное клиническое исследование ZW25 осуществляется набор участников (NCT02892123).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сложности с правильным сочетанием легких и тяжелых цепей в молекуле биспецифического антитела привели к появлению множества технологий и платформ. В целом прослеживается тенденция от случайной сборки тяжелых цепей и отбора среди них гетеродимеров в формате Triomab ко все усложняющейся инженерии Fc-фрагментов, способствующей правильному сочетанию тяжелых цепей. Эволюция инженерии Fc-фрагментов начиналась от единичных замен в Fc-фрагменте («кнопка с дыркой») и, пройдя этапы вставки комплементарных белковых после-

довательностей, пришла к компьютерному моделированию соприкасающихся поверхностей тяжелых цепей в технологии Azymetric для полного исключения образования гомодимеров. Хотя для лечебной активности антител способ правильного сочетания тяжелых цепей имеет первостепенное значение, усовершенствование технологии позволит оптимизировать процесс наработки антител, что в конечном итоге скажется на их доступности.

Правильное сочетание легких цепей оказалось тоже непростой задачей при производстве биспецифических антител. В первом зарегистрированном антителе она решается разной видовой принадлежностью исходных антител (мышь-крыса в формате Triomab). Однако, по-видимому, этот путь тупиковый: антитела полностью животного происхождения не обладают требуемым профилем безопасности при внутривенном введении. Ряд компаний для привязки легкой цепи к «своей» тяжелой цепи используют гибкие линкеры, формируя тем самым scFv. Эта стратегия использована при создании нового зарегистрированного антитела блинатумомаба.

Это антитело показало высокую противоопухолевую активность во всех проведенных клинических исследованиях, что, несомненно, дало толчок к разработке новых биспецифических антител. В новых форматах разработчики попытались учесть недостаток блинатумомаба — быстрый клиренс и необходимость непрерывной инфузии в течение нескольких недель. Так появились разнообразные форматы антител, содержащие Fc-фрагмент, и эволюция здесь тоже пошла по пути компьютерного моделирования, позволяющего придать Fc-фрагменту желаемые свойства: сродство к рецепторам, комплементу и даже к антигену. При этом стало возможным управлять эффекторными функциями антитела и сроком его циркуляции в кровотоке.

Наконец, еще одно зарегистрированное антитело имеет общую легкую цепь для разных специфичностей. Эта легкая цепь подбиралась через конструирование библиотеки легких цепей. Подбор оптимального варианта обеспечивает связывание обеих «ветвей» антитела.

По своему лечебному действию большинство биспецифических антител являются противоопухолевыми препаратами. Многие из них призваны привлекать клетки иммунной системы к злокачественным клеткам, некоторые — служат средством доставки цитотоксических агентов к опухолевым очагам; есть препараты, блокирующие ингибиторные сигнальные пути, позволяющие опухолям уходить от иммунного надзора. Наконец, часть биспецифических антител может связывать рецепторы ростовых факторов, способствующих опухолевому росту или ангиогенезу.

По большому числу биспецифических противоопухолевых антител клинические исследования только начинаются, и их результаты еще недоступны. Однако некоторые из более ранних антител уже показали свою эффективность при удовлетворительной переносимости. С другой стороны, не все мишени для противоопухолевой терапии задействованы. Так, еще не были разработаны препараты на основе антител, распознающих антиген PRAME, активный на опухолевых клетках у многих больных и не экспрессирующийся на

здоровых клетках [102]. Этот антиген расположен на поверхности клеток и может служить перспективной мишенью, которую можно использовать для антителозависимого лизиса опухоли [103, 104].

Вторая крупная группа биспецифических антител относится к блокаторам провоспалительных цитокинов для лечения аутоиммунных заболеваний и хронического воспаления. Такие антитела либо связывают два разных цитокина, либо один цитокин и сывороточный альбумин для пролонгации действия препарата. Стратегия одновременного связывания двух цитокинов оказалась не совсем оправданной: непонятны преимущества биспецифического антитела по сравнению с одновременным введением двух моноспецифических антител, получение которых связано с меньшими трудностями. Так или иначе, пока ни одно антитело, связывающее два разных цитокина, не показало в клинических исследованиях повышения эффективности по сравнению с их моноспецифическими аналогами.

Единственное антитело, не относящееся к упомянутым выше группам, разработано для симуляции действия фактора свертывания VIII, не функционирующего у больных гемофилией А. Для регистрации этого препарата хватило всего 1 успешного клинического исследования, однако разработчики не остановили работу по изучению своего продукта.

Рост числа научных разработок по поиску новых эффективных препаратов на основе биспецифических антител приобретает характер геометрической прогрессии. За последние 1,5 года количество антител в клинических исследованиях удвоилось, а в доклинических испытаниях оно исчисляется сотнями. Разрабатывается множество технологий и платформ для получения биспецифических антител, испытываются новые мишени, новые стратегии воздействия на патогенез, и, несомненно, количество будет переходить в качество и мы вскоре получим новые мощные средства терапии опухолевых и других заболеваний.

В табл. 1 суммированы данные по характеристике биспецифических антител, а также приведена информация о соответствующих клинических исследованиях.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана темой НИР № 114112440124.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: О.Н. Солопова.

Сбор и обработка данных: О.Н. Солопова.

Анализ и интерпретация данных: О.Н. Солопова.

Подготовка рукописи: О.Н. Солопова, В.А. Мисюрин.

Окончательное одобрение рукописи: О.Н. Солопова, В.А. Мисюрин.

Таблица 1. Биспецифические антитела и их характеристика

Препарат	Формат разработки	Мишень 1	Мишень 2	Мишень 3	Показания к применению	Характеристика клинического исследования
Катумаксомаб	Triomab	CD3	ErСAM	FcR	ErСAM-позитивные онкологические заболевания (рак яичников, аденокарцинома желудка и др.)	Зарегистрировано 50 исследований, находящихся на разных стадиях завершения. С 2009 г. препарат зарегистрирован для терапии на территории Евросоюза. Отозван из продажи по причине малой рентабельности [105]
FBTA05	Triomab	CD3	CD20	FcR	В-клеточные лимфопролиферативные заболевания	Прекращено 1 исследование I–II фазы на стадии набора пациентов (NCT01138579)
Эртумаксомаб	Triomab	CD3	HER2/neu	FcR	Рак молочной железы	Прекращено 4 исследования I–II фазы по оценке клинической эффективности
Блинатумомаб	BiTE	CD3	CD19	Нет	В-ОЛЛ	Зарегистрировано 50 исследований, находящихся на разных стадиях завершения. Показан хороший эффект. Одобрен к использованию в клинической практике на территории США, всех стран — членов Евросоюза и Европейской экономической зоны, Канады, Австралии и Японии [106]
Солитомаб	BiTE	CD3	ErСAM	Нет	ErСAM-позитивные онкологические заболевания	Завершено 1 исследование I фазы по оценке безопасности и подбора дозы, результаты не опубликованы (NCT00635596)
MEDI-565	BiTE	CD3	CEA	Нет	Опухоли ЖКТ	Завершено 1 исследование I фазы по оценке эффективности дозы, клинический эффект не выявлен (NCT01284231)
BAY2010112	BiTE	CD3	PSMA	Нет	Рак простаты	Проводится 1 исследование I фазы для оценки безопасности (NCT01723475)
AMG330	BiTE	CD3	CD33	Нет	ОМЛ	Набор в 1 исследование I фазы для оценки безопасности и оптимальной дозы (NCT02520427)
AMG673	BiTE	CD3	CD33	Нет	ОМЛ	Набор в 1 исследование I фазы для оценки оптимальной дозы (NCT03224819)
AMG701	BiTE	CD3	VCMA	Нет	ММ	Набор в 1 исследование I фазы для оценки безопасности и оптимальной дозы (NCT03287908)
AMG596	BiTE	CD3	EGFRvIII	Нет	Глиобластома	Набор в 1 исследование I фазы для оценки безопасности, переносимости, фармакокинетики и фармадинамики (NCT03296696)
AMG757	BiTE	CD3	DLL4	Нет	Немелкоклеточный рак легкого	Набор в 1 исследование I фазы для оценки переносимости (NCT0319940)
GEM333	scFv	CD3	CD33	Нет	ОМЛ	Набор в 1 исследование I фазы для оценки безопасности и побочных эффектов (NCT03516760)
rM28	scFv	CD28	CSPG4	Нет	Меланома	Завершено 1 исследование I–II фазы для оценки безопасности, результаты не опубликованы (NCT00204594)

Продолжение таблицы на следующей странице

Таблица 1. Продолжение

Препарат	Формат разработки	Мишень 1	Мишень 2	Мишень 3	Показания к применению	Характеристика клинического исследования
Эмицизумаб	Биспецифическое антитело с общей легкой цепью	Активированный фактором IX	Неактивированный фактором X	Нет	Гемофилия А	Завершено 2 исследования III фазы, проходит еще 7. Препарат зарегистрирован для предотвращения кровотечения у больных гемофилией А. Одобрен к клиническому применению на территории США, Евросоюза и Японии [107]
ERY974	Биспецифическое антитело с общей легкой цепью	CD3	Glucisap 3	Нет	Glucisap 3-позитивные солидные опухоли, в т. ч. опухоли ЖКТ	Набор в 1 исследование I фазы для оценки максимальной переносимой дозы и противоопухолевого эффекта (NCT02748837)
BSAB-L024	Конъюгат Fab-фрагментов	CD64	CD19	Нет	НХЛ	1 исследование остановлено из-за развития «цитокинного шторма» [33]
MDX447	Конъюгат Fab-фрагментов	CD64	EGFR	Нет	Опухоли ЦНС	Завершено 1 исследование I фазы по оценке эффективности и переносимости, клинический эффект не выявлен (NCT00005813)
MDX-H210	Конъюгат Fab-фрагментов	CD64	HER2	Нет	Рак простаты	Завершено 1 исследование, показана удовлетворительная переносимость [34]
HER2Bi-aATC	Конъюгат Fab-фрагментов	CD3	HER2	Нет	HER2-позитивные опухоли женской репродуктивной системы	Набор в 1 исследование I фазы для оценки побочных эффектов и переносимости (NCT02470559)
GD2Bi-aATC	Конъюгат Fab-фрагментов	CD3	GD2	Нет	GD2-экспрессирующие солидные опухоли, такие как нейробластома и остеосаркома	Набор в 1 исследование I фазы для оценки побочных эффектов и максимальной эффективной дозы (NCT02173093)
CD20Bi	Конъюгат Fab-фрагментов	CD3	CD20	Нет	В-клеточные лимфопролиферативные заболевания	Завершено 2 исследования I фазы, еще одно I фазы досрочно прекращено. Цели — выявление побочных эффектов и определение максимальной эффективной дозы. Результаты не опубликованы
AFM11	TandAb	CD3	CD19	Нет	НХЛ и В-ОЛЛ	Иницировано 2 исследования I фазы для оценки побочных эффектов (NCT02848911) и максимальной переносимой дозы (NCT02106091)
AFM13	TandAb	CD16A	CD30	Нет	Лимфома Ходжкина	Завершено 1 исследование I фазы, показана хорошая переносимость (NCT01221571). Набор в 1 исследование I фазы и еще одно I фазы для оценки оптимальной дозы
MGD006 (флотетумаб)	DART	CD3	CD123	Нет	Онкогематологические заболевания, в т. ч. ОМЛ и ОЛЛ	Набор в 2 исследования I–II фазы для оценки безопасности (NCT0152956) и частоты достижения полных ремиссий (NCT03739606)
MGD007	DART	CD3	gpA33	Нет	Колоректальный рак	Набор в 2 исследования I фазы для подтверждения безопасности и оценки противоопухолевого эффекта (NCT03531632), еще одно I фазы для оценки максимальной переносимой дозы (NCT02248805)
MGD010	DART	CD32B	CD79B	Нет	В-клеточные аутоиммунные заболевания	Завершено 1 исследование фазы I, доказана безопасность (NCT02376036)
MGD013	DART	PD-1	LAG3	Нет	Неоперабельные опухоли различного происхождения	Набор в 1 исследование для оценки безопасности и противоопухолевого эффекта (NCT03219268)

PF-06863135	DART-Fc	CD3	BCMA	FcR	MM	Набор в 1 исследование для оценки безопасности и переносимости (NCT03269136)
RO6867461	CrossMAb	Ang-2	VEGF	Нет	Возрастные изменения сетчатки	Завершено 4 исследования I–II фазы по оценке безопасности, эффективности, переносимости и клинического эффекта; результаты не опубликованы. Начато 2 исследования III фазы для оценки клинического эффекта (NCT03622593 и NCT03622580)
RO5520985	CrossMAb	Ang-2	VEGF	Нет	Колоректальный рак и др. солидные опухоли	Завершено 2 исследования I–II фазы по оценке безопасности, переносимости и клинической эффективности, результаты не опубликованы. Набор в 2 исследования I фазы для оценки переносимости (NCT02665416 и NCT02715531)
RO6958688	CrossMAb	CD3	CEA	Нет	CEA-экспрессирующие опухоли, в т. ч. рак легкого	Проходят 2 исследования I фазы по оценке переносимости и безопасности. Набор в 1 исследование для оценки эффективности (NCT03337698)
RO7082859	CrossMAb	CD3	CD20	Нет	В-клеточные NHL	Набор в 3 исследования I фазы для оценки переносимости
RO7187797	CrossMAb	CD3	FCRH5	Нет	MM	Набор в 1 исследование I фазы для оценки переносимости и безопасности (NCT03275103)
TF2	«Ключ и замок»	Пептид HSG	CEA	Нет	CEA-экспрессирующие и HER2-негативные опухоли, в т. ч. метастатический колоректальный рак и рак молочной железы	Завершено 8 исследований, 1 прервано досрочно, в 1 идет набор. Показана безопасность при использовании у здоровых людей
Anti-CEAanti-DTPA	«Ключ и замок»	CEA	CEA	Нет	Опухоли щитовидной железы	Завершено 1 исследование II фазы по оценке токсичности, результаты не опубликованы (NCT00467506)
DT2219ARL	«Ключ и замок»	CD22	CD19	Нет	В-клеточные лимфопролиферативные заболевания	Завершено 2 исследования I фазы (NCT00889408) и I–II фазы (NCT02370160) по оценке максимальной переносимой дозы, безопасности и клинического эффекта. Отмечен незначительный эффект
2219KDEL	«Ключ и замок»	CD22	CD19	Нет	В-клеточные лимфопролиферативные заболевания	Не проводились
TargomiRs	Наночейки	EGFR	LPS	Нет	Опухоли легочной ткани	Завершено 1 исследование I фазы по оценке безопасной дозы и эффективности (NCT02369198). Отмечен незначительный эффект
EGFR(V)-EDV	Наночейки	EGFR	LPS	Нет	Солидные опухоли, в т. ч. рак легкого	Набор в 2 исследования I фазы для оценки оптимальной дозы. Завершено 1 исследование I фазы; доказана нетоксичность, достигнута стабилизация у некоторых больных (NCT02369198)
JNJ-63709178	DuoBody	CD3	CD123	Нет	ОМЛ и MM	Набор в 1 исследование I фазы для оценки безопасности и переносимости (NCT02715011)
JNJ-64007957	DuoBody	CD3	BCMA	Нет	ОМЛ и MM	Набор в 1 исследование I фазы для оценки безопасности и переносимости (NCT03145181)

Окончание таблицы на следующей странице

Таблица 1. Окончание

Препарат	Формат разработки	Мишень 1	Мишень 2	Мишень 3	Показания к применению	Характеристика клинического исследования
JNJ-64407564	DuoBody	CD3	GPRC5D	Нет	ОМЛ и ММ	Набор в 1 исследование I фазы для оценки безопасности и переносимости (NCT03399799)
JNJ-61186372	DuoBody	EGFR	c-Met	Нет	Немелкоклеточный рак легкого	Набор в 1 исследование I фазы для оценки безопасности и переносимости (NCT02609776)
GBR 1302	BEAT	CD3	HER2	Нет	Герцептин-резистентные опухоли	Набор в 1 исследование I фазы для оценки безопасности и переносимости (NCT02829372)
GBR 1342	BEAT	CD3	CD38	Нет	ММ	Набор в 1 исследование I фазы для оценки безопасности и переносимости (NCT03309111)
XmAb13676	XmAb	CD3	CD20	Нет	В-клеточные лимфопролиферативные заболевания	Набор в 1 исследование I фазы для оценки безопасности и переносимости (NCT02924402)
XmAb14045	XmAb	CD3	CD123	Нет	Онкогематологические заболевания	Набор в 1 исследование I фазы для оценки безопасности и переносимости (NCT02730312)
XmAb18087	XmAb	CD3	SSTR2	Нет	Глиобластома	Набор в 1 исследование I фазы для оценки безопасности, переносимости и противоопухолевого эффекта (NCT0341915)
XmAb20717	XmAb	PD-1	CTLA-4	Нет	Соллидные опухоли	Набор в 1 исследование I фазы для оценки безопасности, переносимости и противоопухолевого эффекта (NCT03517488)
SAR156597	IgG-scFv	ИЛ-13	ИЛ-4	Нет	Идиопатический фиброз легкого и диффузный системный склероз	Завершено 2 исследования I–II фазы (NCT01529853) и II фазы (NCT02345070) по оценке токсичности и выбору оптимальной дозы; результаты не опубликованы. Иницировано 1 исследование II фазы для оценки терапевтической эффективности (NCT02921971)
LY3164530	scFv-IgG-scFv	EGFR	c-Met	Нет	Соллидные опухоли	Завершено 1 исследование I фазы по оценке безопасности и переносимости, результаты не опубликованы (NCT02221882)
MM-111	Альбумин и 2 Fv-фрагмента	HER2	HER3	Нет	Герцептин-резистентные опухоли	Завершено 4 исследования I фазы, доказана безопасность, установлен незначительный противоопухолевый эффект [81]. Данные на clinicaltrials.gov удалены
MM-141	Альбумин и 2 Fv-фрагмента	HER3	IGF-1R	Нет	Соллидные опухоли	Завершено 3 исследования, 1 идет, 1 прервано. Результаты не опубликованы [82, 83]. Данные на clinicaltrials.gov удалены
COVA322	ФуломAb	ФНО-α	ИЛ-17A	Нет	Псориаз	1 исследование остановлено из-за развития побочных эффектов (NCT02243787)
PRS-343	Нанободи	HER2	4–1BB	Нет	Герцептин-резистентные опухоли молочной железы	Набор в 2 исследования I фазы для оценки оптимальной терапевтической дозы (NCT03650348 и NCT03330561)
ATN-103	Нанободи	ФНО-α	Сывороточный альбумин	Нет	Ревматоидный артрит	Завершено 1 исследование I фазы (NCT00959036), два I–II фазы (NCT01007175 и NCT00916110) и одно II фазы (NCT01063803). Показана хорошая переносимость

ALX-0061	Нанободи	ИЛ-6R	Сывороточный альбумин	Нет	Ревматоидный артрит	Завершено 6 исследований, показана хорошая переносимость и эффективность [87]
MSB0010841	Нанободи	ИЛ-17A	ИЛ-17F	Нет	Псориаз	Завершено 1 исследование I фазы; показана хорошая переносимость, низкая иммуногенность и клиническая эффективность (NCT02156466)
BCD-121	Нанободи	ИЛ-17A	ИЛ-17F	ФНО-α	Ревматоидный артрит	Завершено 1 исследование I фазы, результаты не опубликованы (NCT03103451)
MCLA-117	Biclonics	CD3	CLEC12A	Нет	ОМЛ	Набор в 1 исследование I фазы для оценки безопасности, переносимости и противоопухолевого эффекта (NCT03038230)
MCLA-128	Biclonics	HER2	HER3	Нет	Герцептин-резистентные опухоли	Набор в 2 исследования I–II фазы (NCT02912949) и II фазы (NCT03321981) для оценки безопасности, переносимости и противоопухолевого эффекта
MCLA-158	Biclonics	Lgr5	EGFR	Нет	EGFR-экспрессирующие опухоли	Набор в 1 исследование I фазы для оценки безопасности, переносимости и противоопухолевого эффекта (NCT03526835)
REGN1979	VelociSuite	CD3	CD20	Нет	В-клеточные лимфопролиферативные заболевания	2 исследования I фазы для оценки безопасности и переносимости (NCT02651662 и NCT02290951)
OMP-305B83	DVD-Ig	VEGF	DLL4	Нет	Колоректальный рак и другие солидные опухоли	Завершено 1 исследование I фазы, результаты не опубликованы (NCT02298387). Набор в 2 исследования I фазы для оценки безопасности и эффективности препарата, а также эффективности блокирования роста сосудов в опухоли (NCT03030287 и NCT03035253)
FS118	mAb2	LAG3	PD-L1	Нет	Пидилизумаб-резистентные злокачественные опухоли	Набор в 1 исследование для оценки безопасности, переносимости и эффективности (NCT03440437)
IMCgp100	ImmTAC	CD3	gp100	Нет	Меланома	Завершено 2 исследования I фазы по оценке токсичности и переносимости, результаты не опубликованы (NCT01211262 и NCT01209676). Набор в 2 исследования I–II фазы (NCT02570308) и II фазы (NCT03070392) для оценки безопасности и влияния на выживаемость. Иницировано 2 исследования I–II фазы (NCT02535078) и II фазы (NCT02889861), набора пациентов пока нет
ZW25	Azumatic	HER2, один эпитоп	HER2, другой эпитоп	Нет	Герцептин-резистентные опухоли	Набор в 1 исследование I фазы для оценки безопасности и оптимальной дозы (NCT02892123)

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Monoclonal Antibodies Approved by the EMA and FDA for Therapeutic Use (status 2017) [Internet]. Available from: <http://www.actip.org/products/monoclonal-antibodies-approved-by-the-ema-and-fda-for-therapeutic-use>. (accessed 12.08.2018).
2. Drugs@FDA: FDA Approved Drug Products [Internet]. Available from: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm>. (accessed 12.08.2018).
3. Lindhofer H, Mocikat R, Steipe B, Thierfelder S. Preferential species-restricted heavy/light chain pairing in rat/mouse quadromas. Implications for a single-step purification of bispecific antibodies. *J Immunol*. 1995;155(1):219–25.
4. Ridgway JB, Presta LG, Carter P. 'Knobs-into-holes' engineering of antibody CH3 domains for heavy chain heterodimerization. *Protein Eng*. 1996;9(7):617–21. doi: 10.1093/protein/9.7.617.
5. Milstein C, Cuello AC. Hybrid hybridomas and their use in immunohistochemistry. *Nature*. 1983;305(5934):537–40. doi: 10.1038/305537a0.
6. Scientific Publications. Trion Research [Internet]. Available from: <http://www.trionresearch.com/index.php?id=88>. (accessed 12.08.2018).
7. Goere D, Glehen O, Mariette C, et al. Results of a phase II randomized study evaluating the potential benefit of a postoperative intraperitoneal immunotherapy after resection of peritoneal metastases from gastric carcinoma metastases (IPOP-NCT01784900). *J Clin Oncol*. 2017;35(15_suppl):4064. doi: 10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.4064.
8. Borlak J, Langer F, Spanel R, et al. Immune-mediated liver injury of the cancer therapeutic antibody catumaxomab targeting EpCAM, CD3 and Fcγ receptors. *Oncotarget*. 2016;7(19):28059–74. doi: 10.18632/oncotarget.8574.
9. Kurbacher CM, Horn O, Kurbacher JA, et al. Outpatient Intraperitoneal Catumaxomab Therapy for Malignant Ascites Related to Advanced Gynecologic Neoplasms. *Oncologist*. 2015;20(11):1333–41. doi: 10.1634/theoncologist.2015-0076.
10. Study of the Trifunctional Antibody FBTA05 and Donor Lymphocyte Infusion in B-cell Lymphoma After Allogeneic Stem Cell Transplantation (STP-LYM-01). In: *ClinicalTrials.gov* [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2010. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01138579>. (accessed 12.08.2018).
11. Buhmann R, Michael S, Juergen H, et al. Immunotherapy with FBTA05 (Bi20), a trifunctional bispecific anti-CD3 x anti-CD20 antibody and donor lymphocyte infusion (DLI) in relapsed or refractory B-cell lymphoma after allogeneic stem cell transplantation: study protocol of an investigator-driven, open-label, non-randomized, uncontrolled, dose-escalating phase I/II-trial. *J Transl Med*. 2013;11(1):160. doi: 10.1186/1479-5876-11-160.
12. Kiewe P, Hasmuller S, Kahlert S, et al. Phase I trial of the trifunctional anti-HER2 x anti-CD3 antibody ertumaxomab in metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2006;12(10):3085–91. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-05-2436.
13. Garber K. Bispecific antibodies rise again. *Nat Rev Drug Discov*. 2014;13(11):799–801. doi: 10.1038/nrd4478.
14. Wu J, Fu J, Zhang M, Liu D. Blinatumomab: a bispecific T cell engager (BiTE) antibody against CD19/CD3 for refractory acute lymphoid leukemia. *J Hematol Oncol*. 2015;8(1):104. doi: 10.1186/s13045-015-0195-4.
15. Zugmaier G, Klinger M, Schmidt M, Subklewe M. Clinical overview of anti-CD19 BiTE(+) and ex vivo data from anti-CD33 BiTE(+) as examples for retargeting T cells in hematologic malignancies. *Mol Immunol*. 2015;67(2):58–66. doi: 10.1016/j.molimm.2015.02.033.
16. Kohnke T, Krupka C, Tischer J, et al. Increase of PD-L1 expressing B-precursor ALL cells in a patient resistant to the CD19/CD3-bispecific T cell engager antibody blinatumomab. *J Hematol Oncol*. 2015;8(1):111. doi: 10.1186/s13045-015-0213-6.
17. Martinelli G, Boissel N, Chevallier P, et al. Complete hematologic and molecular response in adult patients with relapsed/refractory Philadelphia chromosome-positive B-precursor acute lymphoblastic leukemia following treatment with blinatumomab: Results From a Phase II, Single-Arm, Multicenter Study. *J Clin Oncol*. 2017;35(16):1795–802. doi: 10.1200/JCO.2016.69.3531.
18. Kantarjian H, Stein A, Gokbuget N, et al. Blinatumomab versus Chemotherapy for Advanced Acute Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med*. 2017;376(9):836–47. doi: 10.1056/NEJMoa1609783.
19. Munz M, Baeuerle PA, Gires O. The emerging role of EpCAM in cancer and stem cell signaling. *Cancer Res*. 2009;69(14):5627–9. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-0654.
20. Pishvaian M, Morse MA, McDevitt J, et al. Phase 1 Dose Escalation Study of MEDI-565, a Bispecific T-Cell Engager that Targets Human Carcinoembryonic Antigen, in Patients With Advanced Gastrointestinal Adenocarcinomas. *Clin Colorectal Cancer*. 2016;15(4):345–51. doi: 10.1016/j.clcc.2016.07.009.
21. Friedrich M, Henn A, Raum T, et al. Preclinical characterization of AMG 330, a CD3/CD33-bispecific T-cell-engaging antibody with potential for treatment of acute myelogenous leukemia. *Mol Cancer Ther*. 2014;13(6):1549–57. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-13-0956.
22. Lee D, Kim D, Choi YB, et al. Simultaneous blockade of VEGF and DLL4 by HD105, a bispecific antibody, inhibits tumor progression and angiogenesis. *MAbs*. 2016;8(5):892–904. doi: 10.1080/19420862.2016.1171432.
23. Gurney A, Hoey T. Anti-DLL4, a cancer therapeutic with multiple mechanisms of action. *Vasc Cell*. 2011;3(1):18. doi: 10.1186/2045-824X-3-18.
24. Aliperta R, Cartellieri M, Feldmann A, et al. Bispecific antibody releasing-mesenchymal stromal cell machinery for retargeting T cells towards acute myeloid leukemia blasts. *Blood Cancer J*. 2015;5(9):e348. doi: 10.1038/bcj.2015.73.
25. Grosse-Hovest L, Muller S, Minoia R, et al. Cloned transgenic farm animals produce a bispecific antibody for T cell-mediated tumor cell killing. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101(18):6858–63. doi: 10.1073/pnas.0308487101.
26. Grosse-Hovest L, Hartlapp I, Marwan W, et al. A recombinant bispecific single-chain antibody induces targeted, supra-agonistic CD28-stimulation and tumor cell killing. *Eur J Immunol*. 2003;33(5):1334–40. doi: 10.1002/eji.200323322.
27. Lenting PJ, Denis CV, Christophe OD. Emicizumab, a bispecific antibody recognizing coagulation factors IX and X: how does it actually compare to factor VIII? *Blood*. 2017;130(23):2463–8. doi: 10.1182/blood-2017-08-801662.
28. Oldenburg J, Mahlangu JN, Kim B, et al. Emicizumab Prophylaxis in Hemophilia A with Inhibitors. *N Engl J Med*. 2017;377(9):809–18. doi: 10.1056/NEJMoa1703068.
29. Sampei Z, Igawa T, Soeda T, et al. Identification and multidimensional optimization of an asymmetric bispecific IgG antibody mimicking the function of factor VIII cofactor activity. *PLoS One*. 2013;8(2):e57479. doi: 10.1371/journal.pone.0057479.
30. Merchant AM, Zhu Z, Yuan JQ, et al. An efficient route to human bispecific IgG. *Nat Biotechnol*. 1998;16(7):677–81. doi: 10.1038/nbt0798-677.
31. Ishiguro T, Sano Y, Komatsu SI, et al. An anti-glypican 3/CD3 bispecific T cell-redirecting antibody for treatment of solid tumors. *Sci Transl Med*. 2017;9(410):aaal4291. doi: 10.1126/scitranslmed.aal4291.
32. Fury MG, Lipton A, Smith KM, et al. A phase-I trial of the epidermal growth factor receptor directed bispecific antibody MDX-447 without and with recombinant human granulocyte-colony stimulating factor in patients with advanced solid tumors. *Cancer Immunol Immunother*. 2007;57(2):155–63. doi: 10.1007/s00262-007-0357-5.
33. Hearn A, York IA, Bishop C, Rock KL. Characterizing the specificity and cooperation of aminopeptidases in the cytosol and endoplasmic reticulum during MHC class I antigen presentation. *J Immunol*. 2010;184(9):4725–32. doi: 10.4049/jimmunol.0903125.
34. Fury MG, Lipton A, Smith KM, et al. A phase-I trial of the epidermal growth factor receptor directed bispecific antibody MDX-447 without and with recombinant human granulocyte-colony stimulating factor in patients with advanced solid tumors. *Cancer Immunol Immunother*. 2007;57(2):155–63. doi: 10.1007/s00262-007-0357-5.
35. James ND, Atherton PJ, Jones J, et al. A phase II study of the bispecific antibody MDX-H210 (anti-HER2 x CD64) with GM-CSF in HER2+ advanced prostate cancer. *Br J Cancer*. 2001;85(2):152–6. doi: 10.1054/bjoc.2001.1878.
36. Atta-ur-Rahman. *Frontiers in Clinical Drug Research. Hematology*. 2014;1:378. doi: 10.2174/97816080585871140101.
37. Barbara Ann Karmanos Cancer Institute; National Cancer Institute (NCI). *Treated T Cells Followed by a Stem Cell Transplant in Treating Patients With Multiple Myeloma*. In: *ClinicalTrials.gov* [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2009. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00938626>. (accessed 12.08.2018).
38. Haoyang Yu, Zhengcheng Li, Jing Su. Bispecific antibody capable of being combined with immune cells to enhance tumor killing capability, and preparation method therefor and application thereof. US patent No. 20180021440A1. Available from: <https://patents.google.com/patent/US20180021440A1/en>. (accessed 12.08.2018).
39. Introna M, Franceschetti M, Ciocca A, et al. Rapid and massive expansion of cord blood-derived cytokine-induced killer cells: an innovative proposal for the treatment of leukemia relapse after cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2006;38(9):621–7. doi: 10.1038/sj.bmt.1705503.
40. Lee HK, Kim YG, Kim JS, et al. Cytokine-induced killer cells interact with tumor lysate-pulsed dendritic cells via CCR5 signaling. *Cancer Lett*. 2016;378(2):142–9. doi: 10.1016/j.canlet.2016.05.020.
41. Linn YC, Lau LC, Hui KM. Generation of cytokine-induced killer cells from leukaemic samples with in vitro cytotoxicity against autologous and allogeneic leukaemic blasts. *Br J Haematol*. 2002;116(1):78–86. doi: 10.1046/j.1365-2141.2002.03247.x.
42. Linn YC, Wang SM, Hui KM. Comparative gene expression profiling of cytokine-induced killer cells in response to acute myeloid leukemic and acute lymphoblastic leukemia stimulators using oligonucleotide arrays. *Exp Hematol*. 2005;33(6):671–81. doi: 10.1016/j.exphem.2005.03.005.
43. Lopez RD, Waller EK, Lu PH, Negrin RS. CD58/LFA-3 and IL-12 provided by activated monocytes are critical in the in vitro expansion of CD56+ T cells. *Cancer Immunol Immunother*. 2001;49(12):629–40. doi: 10.1007/s002620000148.
44. Anderson PM, Bach FH, Ochoa AC. Augmentation of cell number and LAK activity in peripheral blood mononuclear cells activated with anti-CD3 and interleukin-2. *Cancer Immunol Immunother*. 1988;27(1):82–8. doi: 10.1007/BF00205763.
45. Hollingsworth MA, Swanson BJ. Mucins in cancer: protection and control of the cell surface. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(1):45–60. doi: 10.1038/nrc1251.
46. Treder M, Reusch U, Marschner J-P, et al. Combination of a cd30xcd16 antibody with a pd-1 antagonist for therapy. World patent No. 2016177846A1. Available from: <https://patents.google.com/patent/WO2016177846A1/en>. (accessed 12.08.2018).
47. Reusch U, Duell J, Ellwanger K, et al. A tetravalent bispecific TandAb (CD19/CD3), AFM11, efficiently recruits T cells for the potent lysis of CD19(+) tumor cells. *MAbs*. 2015;7(3):584–604. doi: 10.1080/19420862.2015.1029216.
48. Munoz L, Nomdedeu JF, Lopez O, et al. Interleukin-3 receptor alpha chain (CD123) is widely expressed in hematologic malignancies. *Haematologica*. 2001;86(12):1261–9.

49. Testa U, Pelosi E, Frankel A. CD 123 is a membrane biomarker and a therapeutic target in hematologic malignancies. *Biomark Res.* 2014;2(1):4. doi: 10.1186/2050-7771-2-4.
50. Heath JK, White SJ, Johnston CN, et al. The human A33 antigen is a transmembrane glycoprotein and a novel member of the immunoglobulin superfamily. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94(2):469–74.
51. Moore PA, Shah K, Yang Y, et al. Development of MGD007, a gpA33 x CD3-Bispecific DART Protein for T-Cell Immunotherapy of Metastatic Colorectal Cancer. *Mol Cancer Ther.* 2018;17(8):1761–72. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-17-1086.
52. Andrews LP, Marciscano AE, Drake CG, Vignali DA. LAG3 (CD223) as a cancer immunotherapy target. *Immunol Rev.* 2017;276(1):80–96. doi: 10.1111/immr.12519.
53. Rockville MD. MacroGenics Presents Updated Data from Phase 1 Study of MGD010 at Annual European Congress of Rheumatology (EULAR 2017) [Internet]. Available from: <http://ir.macrogenics.com/static-files/e6d9617a-90cb-4bb4-8520-fe59d8533ed6>. (accessed 12.08.2018).
54. Pfizer. Phase 1 Study Of PF-06863135, A BCMA-CD3 Bispecific Ab, In Relapse/Refractory Multiple Myeloma. In: *ClinicalTrials.gov* [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2017. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03269136>. (accessed 12.08.2018).
55. Panowski SH, Kuo T, Chen A, et al. Preclinical Evaluation of a Potent Anti-Bcma CD3 Bispecific Molecule for the Treatment of Multiple Myeloma. *Blood* 2016;128:383.
56. Regula JT, Lundh von Leithner P, Foxton R, et al. Targeting key angiogenic pathways with a bispecific CrossMAb optimized for neovascular eye diseases. *EMBO Mol Med.* 2016;8(11):1265–88. doi: 10.15252/emmm.201505889.
57. Campochiaro PA, Hafiz G, Mir TA, et al. Pro-permeability Factors in Diabetic Macular Edema: the Diabetic Macular Edema Treated With Ozurdex Trial. *Am J Ophthalmol.* 2016;168:13–23. doi: 10.1016/j.ajo.2016.04.017.
58. Pressman D. Radiolabeled antibodies. *Ann NY Acad Sci.* 1957;69(4):644–50. doi: 10.1111/j.1749-6632.1957.tb49702.x.
59. Blythman HE, Casellas P, Gros O, et al. Immunotoxins: hybrid molecules of monoclonal antibodies and a toxin subunit specifically kill tumour cells. *Nature.* 1981;290(5802):145–6. doi: 10.1038/290145a0.
60. Valleria DA, Todhunter DA, Kuroki DW, et al. A bispecific recombinant immunotoxin, DT2219, targeting human CD19 and CD22 receptors in a mouse xenograft model of B-cell leukemia/lymphoma. *Clin Cancer Res.* 2005;11(10):3879–88. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-2290.
61. Valleria DA, Chen H, Sicheneder AR, et al. Genetic alteration of a bispecific ligand-directed toxin targeting human CD19 and CD22 receptors resulting in improved efficacy against systemic B cell malignancy. *Leuk Res.* 2009;33(9):1233–42. doi: 10.1016/j.leukres.2009.02.006.
62. Bachanova V, Frankel AE, Cao Q, et al. Phase I study of a bispecific ligand-directed toxin targeting CD22 and CD19 (DT2219) for refractory B-cell malignancies. *Clin Cancer Res.* 2015;21(6):1267–72. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2877.
63. Valleria DA, Oh S, Chen H, et al. Bioengineering a unique deimmunized bispecific targeted toxin that simultaneously recognizes human CD22 and CD19 receptors in a mouse model of B-cell metastases. *Mol Cancer Ther.* 2010;9(6):1872–83. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0203.
64. Taylor K, Howard CB, Jones ML, et al. Nanocell targeting using engineered bispecific antibodies. *MAbs.* 2015;7(1):53–65. doi: 10.4161/19420862.2014.985952.
65. Anselmo AC, Mitragotri S. Nanoparticles in the clinic. *Bioeng Transl Med.* 2016;1(1):10–29. doi: 10.1002/btm2.10003.
66. van Zandwijk N, Pavlakis N, Kao SC, et al. Safety and activity of microRNA-loaded minicells in patients with recurrent malignant pleural mesothelioma: a first-in-man, phase 1, open-label, dose-escalation study. *Lancet Oncol.* 2017;18(10):1386–96. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30621-6.
67. Solomon BJ, Desai J, Rosenthal M, et al. A First-Time-In-Human Phase I Clinical Trial of Bispecific Antibody-Targeted, Paclitaxel-Packaged Bacterial Minicells. *PLoS One.* 2015;10(12):e0144559. doi: 10.1371/journal.pone.0144559.
68. Labrijn AF, Meesters JI, Priem P, et al. Controlled Fab-arm exchange for the generation of stable bispecific IgG1. *Nat Protoc.* 2014;9(10):2450–63. doi: 10.1038/nprot.2014.169.
69. Atamaniuk J, Gleiss A, Porpacz E, et al. Overexpression of G protein-coupled receptor 5D in the bone marrow is associated with poor prognosis in patients with multiple myeloma. *Eur J Clin Invest.* 2012;42(9):953–60. doi: 10.1111/j.1365-2362.2012.02679.x.
70. Janssen Research & Development, LLC. A Dose Escalation Study of JNJ-61186372 in Participants With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. In: *ClinicalTrials.gov* [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2018. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02609776>. (accessed 12.08.2018).
71. Moretti P, Skegrod D, Ollier R, et al. BEAT[®] the bispecific challenge: a novel and efficient platform for the expression of bispecific IgGs. *BMC Proceed.* 2013;7(Suppl 6):O9. doi: 10.1186/1753-6561-7-s6-o9.
72. Skegrod D, Stutz C, Ollier R, et al. Immunoglobulin domain interface exchange as a platform technology for the generation of Fc heterodimers and bispecific antibodies. *J Biol Chem.* 2017;292(23):9745759. doi: 10.1074/jbc.M117782433.
73. Bzymek KP, Puckett JW, Zer C, et al. Mechanically interlocked functionalization of monoclonal antibodies. *Nat Commun.* 2018;9(1):1580. doi: 10.1038/s41467-018-03976-5.
74. Moore GL, Bautista C, Pong E, et al. A novel bispecific antibody format enables simultaneous bivalent and monovalent co-engagement of distinct target antigens. *MAbs.* 2011;3(6):546–57. doi: 10.4161/mabs.3.6.18123.
75. Lazar GA, Dang W, Karki S, Engineered antibody Fc variants with enhanced effector function. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103(11):4005–10. doi: 10.1073/pnas.0508123103.
76. Kiviniemi A, Gardberg M, Kivinen K, et al. Somatostatin receptor 2A in gliomas: Association with oligodendrogliomas and favourable outcome. *Oncotarget.* 2017;8(30):49123–32. doi: 10.18632/oncotarget.17097.
77. Adams RL, Adams IP, Lindow SW, et al. Somatostatin receptors 2 and 5 are preferentially expressed in proliferating endothelium. *Br J Cancer.* 2005;92(8):1493–8. doi: 10.1038/sj.bjc.6602503.
78. Sanofi. Effectiveness and Safety of SAR156597 in Treating Diffuse Systemic Sclerosis. In: *ClinicalTrials.gov* [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2018. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02921971>. (accessed 12.08.2018).
79. Liu L. A Novel MET-EGFR Bispecific Antibody LY3164530 Shows Advantage Over Combining MET and EGFR Antibodies In Tumor Inhibition and Overcoming Resistance [Internet]. Available from: <http://bispecific.com/wp-content/uploads/sites/90/2016/10/1630-Ling-Lui-YES.pdf>. (accessed 12.08.2018).
80. McDonagh CF, Huhlov A, Harms BD, et al. Antitumor activity of a novel bispecific antibody that targets the ErbB2/ErbB3 oncogenic unit and inhibits heregulin-induced activation of ErbB3. *Mol Cancer Ther.* 2012;11(3):582–93. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0820.
81. Richards DA, Braiteh FS, Garcia AA, et al. A phase 1 study of MM-111, a bispecific HER2/HER3 antibody fusion protein, combined with multiple treatment regimens in patients with advanced HER2-positive solid tumors. *J Clin Oncol.* 2014;32(15s):651. doi: 10.1200/jco.2014.32.15_suppl.651.
82. Fitzgerald JB, Johnson BW, Baum J, et al. MM-141, an IGF-IR- and ErbB3-directed bispecific antibody, overcomes network adaptations that limit activity of IGF-IR inhibitors. *Mol Cancer Ther.* 2014;13(2):410–25. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-13-0255.
83. Camblin AJ, Pace EA, Adams S, et al. Dual Inhibition of IGF-1R and ErbB3 Enhances the Activity of Gemcitabine and Nab-Paclitaxel in Preclinical Models of Pancreatic Cancer. *Clin Cancer Res.* 2018;24(12):2873–85. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-2262.
84. Tsai YC, Tsai TF. Anti-interleukin and interleukin therapies for psoriasis: current evidence and clinical usefulness. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2017;9(11):277–94. doi: 10.1177/1759720X17735756.
85. Dahlen E, Veitonmaki N, Norlen P. Bispecific antibodies in cancer immunotherapy. *Ther Adv Vaccines Immunother.* 2018;6(1):3–17. doi: 10.1177/2515135518763280.
86. Els Conrath K, Lauwereys M, Wyns L, Muyldermans S. Camel single-domain antibodies as modular building units in bispecific and bivalent antibody constructs. *J Biol Chem.* 2001;276(10):7346–50. doi: 10.1074/jbc.M007734200.
87. Elsadek B, Kratz F. Impact of albumin on drug delivery-new applications on the horizon. *J Contr Release.* 2012;157(1):4–28. doi: 10.1016/j.jconrel.2011.09.069.
88. Moses E, Zeldin RK. Topline results from the Phase IIb monotherapy study of vobaniluzumab, ALX-0061 (anti-IL-6R), in patients with moderate to severe RA. [Internet] Available from: http://www.ablynx.com/uploads/data/files/160706%20alx-0061%20c202%20webcast_final.pdf. (accessed 12.08.2018).
89. Merck KGaA. Multiple Ascending Dose Trial of MSB0010841 (Anti-IL17A/F Nanobody) in Psoriasis Subjects. In: *ClinicalTrials.gov* [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2017. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT02156466>. (accessed 12.08.2018).
90. Насонов Е.Л., Мазуров В.И., Усачева Ю.В. и др. Разработка иотечественных оригинальных генно-инженерных биологических препаратов для лечения иммуновоспалительных ревматических заболеваний. *Научно-практическая ревматология.* 2017;55(2):201–10. doi: 10.14412/1995-4484-2017-201-210. [Nasonov EL, Mazurov VI, Usacheva YuV, et al. Developments of Russian original biological agents for the treatment of immunoinflammatory rheumatic diseases. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya.* 2017;55(2):201–10. doi: 10.14412/1995-4484-2017-201-210. (In Russ)]
91. Костарева О.С. Исследование структурных основ взаимодействия провоспалительного цитокина с наноконъюгатом для разработки высокоэффективных терапевтических препаратов [электронный документ]. Доступно по: http://рнф.рф/prjcard_int?17-74-10156. Ссылка активна на 12.08.2018. [Kostareva OS. The study of structural background of the interaction of a pro-inflammatory cytokine with a nanoantibody for the development of highly effective drugs [Internet]. Available from: http://рнф.рф/prjcard_int?17-74-10156. (accessed 12.08.2018) (In Russ)]
92. Toft-Petersen M, Norderby L, Kjeldsen E, et al. Unravelling the relevance of CLEC12A as a cancer stem cell marker in myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol.* 2016;175(3):393–401. doi: 10.1111/bjh.14270.
93. Smith EJ, Olson K, Haber LJ, et al. A novel, native-format bispecific antibody triggering T-cell killing of B-cells is robustly active in mouse tumor models and cynomolgus monkeys. *Sci Rep.* 2015;5(1):17943. doi: 10.1038/srep17943.
94. Murphy AJ, Macdonald LE, Stevens S, et al. Mice with megabase humanization of their immunoglobulin genes generate antibodies as efficiently as normal mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014;111(14):5153–8. doi: 10.1073/pnas.1324022111.
95. Li Y, Hickson JA, Ambrosi DJ, et al. ABT-165, a Dual Variable Domain Immunoglobulin (DVD-Ig) Targeting DLL4 and VEGF, Demonstrates Superior Efficacy and Favorable Safety Profiles in Preclinical Models. *Mol Cancer Ther.* 2018;17(5):1039–50. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-17-0800.
96. Shutter JR, Scully S, Fan W, et al. DLL4, a novel Notch ligand expressed in arterial endothelium. *Gen Dev.* 2000;14(11):1313–8.
97. Wozniak-Knopp G, Bartl S, Bauer A, et al. Introducing antigen-binding sites in structural loops of immunoglobulin constant domains: Fc fragments with en-

gineered HER2/neu-binding sites and antibody properties. *Protein Eng Des Sel*. 2010;23(4):289–97. doi: 10.1093/protein/gzq005.

98. Rucker F, Himmler G, Wozniak-Knopp G. Novel multivalent immunoglobulins. World patent No. 2008003103A2 [Internet]. Available from: <https://patents.google.com/patent/WO2008003103A2>. (accessed 12.08.2018).

99. Oates J, Hassan NJ, Jakobsen BK. ImmTACs for targeted cancer therapy: Why, what, how, and which. *Mol Immunol*. 2015;67(2):67–74. doi: 10.1016/j.molimm.2015.01.024.

100. Sacco JJ, Kalirai H, Kenyani J, et al. Recent breakthroughs in metastatic uveal melanoma: a cause for optimism? *Fut Oncol*. 2018;14(14):1335–8. doi: 10.2217/fo-2018-0116.

101. Von Kreudenstein TS, Escobar-Cabrera E, Lario PI, et al. Improving biophysical properties of a bispecific antibody scaffold to aid developability: quality by molecular design. *MAbs*. 2013;5(5):646–54. doi: 10.4161/mabs.25632.

102. Yao J, Caballero OL, Yung WK? et al. Tumor subtype-specific cancer-testis antigens as potential biomarkers and immunotherapeutic targets for cancers. *Cancer Immunol Res*. 2014;2(4):371–9. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0088.

103. Лыжко Н.А., Ахлынина Т.В., Мисюрин А.В. и др. Повышение уровня экспрессия гена PRAME в опухолевых клетках сопровождается

локализацией белка в клеточном ядре. *Российский биотерапевтический журнал*. 2015;14(4):19–30.

[Lyzhko NA, Akhlynina TV, Misyurin AV, et al. The increased PRAME expression in cancer cells is associated with deposit of the protein in cell nucleus. *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal*. 2015;14(4):19–30. (In Russ)]

104. Pankov D, Sjostrom L, Kalidindi T, et al. In vivo immuno-targeting of an extracellular epitope of membrane bound preferentially expressed antigen in melanoma (PRAME). *Oncotarget*. 2017;8(39):65917–31. doi: 10.18632/oncotarget.19579.

105. European medicine agency. Public statement. Removab: withdrawal of the marketing authorisation in the European Union [Internet]. Available from: https://www.ema.europa.eu/documents/public-statement/public-statement-removab-withdrawal-marketing-authorisation-european-union_en.pdf. (accessed 19.01.2019).

106. BLINCYTO® (blinatumomab) Approved In Japan For The Treatment Of Relapsed Or Refractory B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia [Internet]. Available from: <https://www.amgen.com/media/news-releases/2018/09/blincyto-blinatumomab-approved-in-japan-for-the-treatment-of-relapsed-or-refractory-bcell-acute-lymphoblastic-leukemia/> (accessed 19.01.2019).

107. Scott LJ, Kim ES. Elicizumab-kxwh: First Global Approval. *Drugs*. 2018;78(2):269–74. doi: 10.1007/s40265-018-0861-2.

