

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **036261**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.10.20

(21) Номер заявки
201790926

(22) Дата подачи заявки
2015.10.28

(51) Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) **КОМБИНИРОВАННОЕ ЛЕЧЕНИЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО НОВООБРАЗОВАНИЯ**

(31) **62/072,035; 62/157,368; 62/192,025**

(32) **2014.10.29; 2015.05.05; 2015.07.13**

(33) **US**

(43) **2017.09.29**

(86) **PCT/US2015/057781**

(87) **WO 2016/069727 2016.05.06**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ФАЙВ ПРАЙМ ТЕРАПЬЮТИКС,
ИНК.; БРИСТОЛЬ-МЕЙЕРЗ
СКВИББ КОМПАНИ (US)**

(72) Изобретатель:
**Вонг Брайан, Хамблтон Джули,
Сикорски Роберт, Мастеллер Эмма,
Хестер Кевин, Белловин Дэвид,
Льюис Кэтрин Э. (US)**

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

(56) ZHU Y. ET AL.: "CSF1/CSF1R Blockade Reprograms Tumor-Infiltrating Macrophages and Improves Response to T-cell Checkpoint Immunotherapy in Pancreatic Cancer Models", *CANCER RESEARCH*, vol. 74, no. 18, 31 July 2014 (2014-07-31), pages 5057-5069, XP055242334, US ISSN: 0008-5472, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-3723 cited in the application whole document, especially the Abstract; Figures 5B and 5C; pages 5066-5067
WO-A1-2013132044

RIES CAROLA H. ET AL.: "Targeting Tumor-Associated Macrophages with Anti-CSF-1R

Antibody Reveals a Strategy for Cancer Therapy", *CANCER CELL*, vol. 25, no. 6, 16 June 2014 (2014-06-16), pages 846-859, XP028855510, ISSN: 1535-6108, DOI: 10.1016/J.CCR.2014.05.016 cited in the application whole document, especially the Abstract; page 849, right-hand column, last two paragraphs

US-A1-2013309250

US-A1-2011274683

US-A1-2015073129

RIES CAROLA H. ET AL.: "CSF-1/CSF-1R targeting agents in clinical development for cancer therapy", *CURRENT OPINION IN PHARMACOLOGY*, vol. 23, 1 August 2015 (2015-08-01), pages 45-51, XP055243143, NL ISSN: 1471-4892, DOI: 10.1016/j.coph.2015.05.008 whole document, especially Table 1

Anonymous: "Bristol-Myers Squibb and Five Prime Therapeutics Announce Exclusive Clinical Collaboration to Evaluate the Combination of Investigational Immunotherapies Opdivo (nivolumab) and FPA008 in Six Tumor Types", 24 November 2014 (2014-11-24), pages 1-4, XP055243984, Retrieved from the Internet: URL: <http://news.bms.com/press-release/oncology/bristol-myers-squibb-and-five-prime-therapeutics-announce-exclusive-clinical-&t=635526866036072324> [retrieved on 2016-01-22] the whole document

Anonymous: "Study of FPA008 in Combination With Nivolumab in Patients With Selected Advance Cancers", *ClinicalTrials.gov*, 17 August 2015 (2015-08-17), pages 1-4, XP055243978, Retrieved from the Internet: URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02526017> [retrieved on 2016-01-22] the whole document

(57) Изобретение относится к способам лечения злокачественного новообразования с применением антител, связывающихся с рецептором колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R), в комбинации с ингибиторами PD-1/PD-L1.

B1
036261

036261
B1

Область техники

Способы лечения злокачественного новообразования с помощью антител, связывающихся с рецептором колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R), в комбинации с ингибиторами PD-1/PD-L1.

Уровень техники

Рецептор колониестимулирующего фактора 1 (обозначаемый в настоящем описании как CSF1R; также обозначаемый в этой области как FMS, FIM2, C-FMS, рецептор M-KCФ и CD115) является одно-проходным трансмембранным рецептором с N-концевым внеклеточным доменом (ECD) и C-концевым внутриклеточным доменом с тирозинкиназной активностью. Связывание лиганда CSF1 или лиганда интерлейкина 34 (обозначаемого в настоящем описании как ИЛ-34; Lin et al., Science 320: 807-11 (2008)) с CSF1R приводит к димеризации рецептора, положительной регуляции тирозинкиназной активности белка CSF1R, фосфорилированию остатков тирозина CSF1R и последующей передаче сигнала. Активация CSF1R посредством CSF1 или ИЛ-34 приводит к миграции, выживанию, пролиферации и дифференцировке моноцитов и макрофагов, а также других моноцитарных клеточных ростков, таких как остеокласты, дендритные клетки и микроглия.

Обнаружено, что многие опухолевые клетки или опухолевые стромальные клетки продуцируют CSF1, активирующей моноцитарные/макрофагальные клетки посредством CSF1R. Показано, что уровень CSF1 в опухолях коррелирует с уровнем опухолеассоциированных макрофагов (TAM) в опухоли. Обнаружено, что более высокие уровни TAM коррелируют с более неблагоприятным прогнозом у пациентов с большинством типов злокачественных новообразований. Кроме того, обнаружено, что CSF1 стимулируют рост опухоли и прогрессирование до метастазирования, например, в ксенотрансплантатах рака молочной железы человека у мышей. См., например, Paulus et al., Cancer Res. 66: 4349-56 (2006). Кроме того, CSF1R играет роль в остеолитической деструкции костной ткани при костном метастазировании. См., например, Ohno et al., Mol. Cancer Ther. 5: 2634-43 (2006). TAM стимулируют рост опухоли, частично, посредством супрессии противоопухолевой эффекторной функции Т-клеток посредством высвобождения иммуносупрессорных цитокинов и экспрессии Т-клеточных ингибиторных поверхностных белков.

Генетические изменения при злокачественном новообразовании приводят к образованию разнообразного набора антигенов, которые могут опосредовать противоопухолевый иммунитет. Распознавание антигена Т-клеточными рецепторами (TCR) инициирует Т-клеточные ответы, регулируемые балансом между активирующими и ингибиторными сигналами. Ингибиторные сигналы, или "иммунные контрольные точки", играют важную роль в нормальных тканях, предотвращая аутоиммунность. Положительная регуляция белков иммунных контрольных точек позволяет злокачественным новообразованиям уклоняться от противоопухолевого иммунитета. Два белка иммунных контрольных точек привлекают внимание в области клинической иммунотерапии злокачественных новообразований, антиген 4 цитотоксических Т-лимфоцитов (CTLA-4) и белок программируемой гибели клеток 1 (PD-1). Комбинация антитела против CTLA-4 и антитела против PD-1 одобрена для лечения метастазирующей меланомы, проводят несколько дополнительных клинических испытаний для исследования использования этой комбинации для лечения других злокачественных новообразований. В настоящее время антитела против PD-1 и антитела против CTLA-4 исследуют для использования в качестве монотерапии в клинических испытаниях в качестве лечения многих типов злокачественных новообразований. В настоящее время также в стадии клинической разработки находятся антитела против PD-L1, связывающиеся с PD-L1, одним из лигандов PD-1.

Многие опухоли часто экспрессируют множество молекул контрольных точек одновременно. В связи с этим комбинации модуляторов контрольных точек подвергают клиническому тестированию с целью улучшения их эффективности. Первоначальные клинические результаты в отношении комбинации антитела против CTLA-4 (Ab против CTLA-4) и антитела против PD-1 (Ab против PD-1) свидетельствуют об улучшенной общей доле отвечающих на лечение, повышенной доле отвечающих с полным ответом, а также общих коэффициентах выживаемости при метастазирующей меланоме по сравнению с Ab против CTLA-4 в отдельности или историческими контролями.

Как представлено в настоящем описании, в клинических испытаниях продемонстрирована значительная противоопухолевая активность антитела против PD-1 в комбинации с антителом против CSF1R.

Сущность изобретения

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам лечения злокачественного новообразования у индивидуума, включающим введение индивидууму антитела против CSF1R и ингибитора PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 является антителом. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 является антителом против PD-1. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит CDR тяжелой цепи и легкой цепи антитела, выбранного из ниволумаба и пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит переменные области тяжелой цепи и легкой цепи антитела, выбранного из ниволумаба и пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 является антителом против PD-L1. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-L1 содержит CDR тяжелой цепи и легкой цепи антитела, выбранного из BMS-936559, MPDL3280A, MEDI4736

и MSB0010718C. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-L1 содержит переменные области тяжелой цепи и легкой цепи антитела, выбранного из BMS-936559, MPDL3280A, MEDI4736 и MSB0010718C. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-L1 выбрано из BMS-936559, MPDL3280A, MEDI4736 и MSB0010718C. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 является слитым белком. В некоторых вариантах осуществления слитый белок является AMP-224.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R и ингибитор PD-1/PD-L1 вводят одновременно или последовательно. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R и ингибитор PD-1/PD-L1 вводят одновременно. В некоторых вариантах осуществления одну или несколько доз ингибитора PD-1/PD-L1 вводят перед введением антитела против CSF1R. В некоторых вариантах осуществления индивидууму проводят полный курс терапии ингибитором PD-1/PD-L1 перед введением антитела против CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R вводят в течение второго курса терапии ингибитором PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления индивидууму вводят по меньшей мере одну, по меньшей мере две, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре дозы ингибитора PD-1/PD-L1 перед введением антитела против CSF1R. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одну дозу ингибитора PD-1/PD-L1 вводят одновременно с ингибитором CSF1R. В некоторых вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против CSF1R вводят перед введением ингибитора PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления индивидууму вводят по меньшей мере две, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре дозы антитела против CSF1R перед введением ингибитора PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одну дозу антитела против CSF1R вводят одновременно с ингибитором PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления два лекарственных средства вводят в один день. В некоторых вариантах осуществления лекарственные средства смешивают перед введением и, таким образом, вводят в виде смеси. Например, в некоторых вариантах осуществления лекарственные средства можно упаковывать и хранить в одном сосуде (т.е. состав с фиксированной дозой), или, альтернативно, содержимое сосудов, содержащих каждое отдельное лекарственное средство, можно смешивать непосредственно перед введением. В различных вариантах осуществления лекарственные средства можно вводить *in vivo* различными путями, включая в качестве неограничивающих примеров пероральный, внутриаартериальный, парентеральный, интраназальный, внутривенный, внутримышечный, внутрисердечный, внутрижелудочковый, интратрахеальный, буккальный, ректальный, интраперитонеальный, внутрикожный, местный, трансдермальный и интракальный или имплантацию или ингаляцию.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R вводят в дозе приблизительно 0,1, приблизительно 0,3, приблизительно 0,5, приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5 или приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 вводят в дозе 0,1-10 мг/кг, такой как, например, приблизительно 0,1, приблизительно 0,3, приблизительно 0,5, приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5 или приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R и ингибитор PD-1/PD-L1 вводят, например, в одной из указанных выше доз приблизительно один раз в 1, 2, 3, 4 или 5 недель, например приблизительно один раз в 2 недели.

В определенных вариантах осуществления первая доза является терапевтической дозой, и вторая доза является терапевтической дозой. В других вариантах осуществления первая доза является субтерапевтической дозой, и вторая доза является терапевтической дозой. В некоторых вариантах осуществления первая доза находится в диапазоне по меньшей мере от приблизительно 80 мг по меньшей мере до приблизительно 800 мг или по меньшей мере от приблизительно 0,1 мг/кг по меньшей мере до приблизительно 10,0 мг/кг массы тела. В некоторых вариантах осуществления вторая доза находится в диапазоне по меньшей мере от приблизительно 80 мг по меньшей мере до приблизительно 800 мг или по меньшей мере от приблизительно 0,1 мг/кг по меньшей мере до приблизительно 10,0 мг/кг массы тела. В одном конкретном варианте осуществления первая доза составляет по меньшей мере приблизительно 3 мг/кг массы тела или 240 мг, вводимые раз приблизительно в 2 недели.

В некоторых вариантах осуществления индивидууму вводят по меньшей мере две дозы, по меньшей мере три дозы, по меньшей мере четыре дозы, по меньшей мере пять доз, по меньшей мере шесть доз, по меньшей мере семь доз, по меньшей мере восемь доз, по меньшей мере девять доз, по меньшей мере десять доз, по меньшей мере 12 доз, по меньшей мере 20 доз.

В некоторых вариантах осуществления первая доза является базовой дозой или дозой, зависящей от массы тела. В других вариантах осуществления вторая доза является базовой дозой или дозой, зависящей от массы тела.

В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование выбрано из немелкоклеточного рака легких, меланомы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, рака яичников, рака поджелудочной железы, почечноклеточной карциномы, печеночноклеточной карциномы, рака мочевого пузыря и рака эндометрия. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование является неоплазией центральной нервной системы. В некоторых вариантах осуществления неоплазия центральной нервной системы является злокачественной глиомой или глиобластомой. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование рецидивирует или прогрессирует после терапии, вы-

бранной из хирургического лечения, химиотерапии, лучевой терапии или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления пациент имеет злокачественное новообразование стадии III или стадии IV, как определено ниже в разделе определений в отношении конкретных злокачественных новообразований. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование пациента метастазирует. В некоторых вариантах осуществления индивидуум недостаточно отвечает на ингибитор PD-1/PD-L1 или является рефрактерным в отношении предшествующего лечения ингибитором PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления индивидууму ранее проводили терапию ингибитором PD-1/PD-L1, и в других вариантах осуществления индивидууму ранее не проводили терапию ингибитором PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления пациенту ранее проводили одно или несколько из химиотерапии, лучевой терапии или хирургического лечения; в некоторых таких вариантах осуществления пациент имеет задокументированное прогрессирование опухоли, несмотря на такое предшествующее лечение. В некоторых вариантах осуществления введение антитела против CSF1R и ингибитора PD-1/PD-L1 приводит к синергическому действию на рост, массу и/или объем опухоли, сравниваемым в модели ксенотрансплантата злокачественной опухоли мыши, по сравнению с введением антитела против CSF1R или ингибитора PD-1/PD-L1 в отдельности.

В некоторых вариантах осуществления способов пациента с немелкоклеточным раком легких (NSCLC) лечат антителом против CSF1R (например, антителом против CSF1R, как представлено в настоящем описании, таким как антитело, содержащее CDR тяжелой и легкой цепи HuAB1) и ингибитором PD-1/PD-L1 (например, антителом против PD-1, содержащим CDR тяжелой цепи и легкой цепи ниволумаба, или пембролизумаба, или слитого белка или пептида ингибитора PD-1/PD-L1, такого как AMP-224 или AUR-012). В некоторых таких вариантах осуществления пациент имеет заболевание стадии IIIB или IV, и/или у него наблюдают прогрессирование или рецидивирование заболевания в течение и/или после двухкомпонентной химиотерапии соединениями платины или другой схемы химиотерапии для заболевания на поздней стадии или метастазирующего заболевания. В некоторых вариантах осуществления пациента ранее не подвергали воздействию ингибитора PD-1/PD-L1, и в других вариантах осуществления пациент является рефрактерным по отношению к лечению ингибитором PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R вводят в дозе приблизительно 0,1, приблизительно 0,3, приблизительно 0,5, приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5 или приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 вводят в дозе 0,1-10 мг/кг, такой как, например, приблизительно 0,1, приблизительно 0,3, приблизительно 0,5, приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5 или приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R и ингибитор PD-1/PD-L1 вводят, например, в одной из указанных выше доз раз в 1, 2, 3, 4 или 5 недель, например приблизительно раз в 2 недели. В некоторых вариантах осуществления введение антитела против CSF1R и ингибитора PD-1/PD-L1 приводит к синергическому действию на рост, массу и/или объем опухоли, сравниваемые в модели ксенотрансплантата NSCLC мыши, по сравнению с введением антитела против CSF1R или ингибитора PD-1/PD-L1 в отдельности.

В некоторых вариантах осуществления способов меланому лечат антителом против CSF1R (например, антителом против CSF1R, как представлено в настоящем описании, таким как антитело, содержащее CDR тяжелой и легкой цепи HuAB1) и ингибитором PD-1/PD-L1 (например, антителом против PD-1, содержащим CDR тяжелой цепи и легкой цепи ниволумаба или пембролизумаба, или слитым белком или пептидом ингибитора PD-1/PD-L1, таким как AMP-224 или AUR-012). В некоторых таких вариантах осуществления пациент имеет меланому стадии III или IV. В некоторых вариантах осуществления у пациента наблюдают прогрессирование заболевания в течение или после лечения по меньшей мере одним ингибитором BRAF, или он имеет BRAF дикого типа. В некоторых вариантах осуществления пациента ранее не подвергали воздействию ингибитора PD-1/PD-L1, и в других вариантах осуществления пациент является рефрактерным в отношении лечения ингибитором PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R вводят в дозе приблизительно 0,1, приблизительно 0,3, приблизительно 0,5, приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5 или приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 вводят в дозе 0,1-10 мг/кг, такой как, например, приблизительно 0,1, приблизительно 0,3, приблизительно 0,5, приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5 или приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R и ингибитор PD-1/PD-L1 вводят, например, в одной из указанных выше доз раз в 1, 2, 3, 4 или 5 недель, например приблизительно раз в 2 недели. В некоторых вариантах осуществления введение антитела против CSF1R и ингибитора PD-1/PD-L1 приводит к синергическому действию на рост, массу и/или объем опухоли, сравниваемые в модели ксенотрансплантата меланомы мыши, по сравнению с введением антитела против CSF1R или ингибитора PD-1/PD-L1 в отдельности.

В некоторых вариантах осуществления способов плоскоклеточную карциному головы и шеи (SSCHN) лечат антителом против CSF1R (например, антителом против CSF1R, как представлено в настоящем описании, таким как антитело, содержащее CDR тяжелой и легкой цепи HuAB1) и ингибитором PD-1/PD-L1 (например, антителом против PD-1, содержащим CDR тяжелой цепи и легкой цепи ниволу-

маба или пембролизумаба, или слитым белком или пептидом ингибитора PD-1/PD-L1, таким как AMP-224 или AUR-012). В некоторых вариантах осуществления пациент имеет SSCHN стадии III или IV или имеет рецидивирующую или метастазирующую SSCHN. В некоторых вариантах осуществления пациенту ранее проводили химиотерапию, такую как терапия соединениями платины, но наблюдали прогрессирование или рецидивирование опухоли. В некоторых вариантах осуществления пациенту ранее проводили лучевую терапию, необязательно, вместе с терапией соединениями платины, но наблюдали прогрессирование или рецидивирование опухоли. В некоторых вариантах осуществления пациента ранее не подвергали воздействию ингибитора PD-1/PD-L1, и в других вариантах осуществления пациент является рефрактерным по отношению к лечению ингибитором PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R вводят в дозе приблизительно 0,1, приблизительно 0,3, приблизительно 0,5, приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5 или приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 вводят в дозе 0,1-10 мг/кг, такой как, например, приблизительно 0,1, приблизительно 0,3, приблизительно 0,5, приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5 или приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R и ингибитор PD-1/PD-L1 вводят, например, в одной из указанных выше доз раз в 1, 2, 3, 4 или 5 недель, например приблизительно раз в 2 недели. В некоторых вариантах осуществления введение антитела против CSF1R и ингибитора PD-1/PD-L1 приводит к синергическому действию на рост, массу и/или объем опухоли, сравниваемые в модели ксенотрансплантата плоскоклеточной карциномы мыши, по сравнению с введением антитела против CSF1R или ингибитора PD-1/PD-L1 в отдельности.

В некоторых вариантах осуществления способов рак поджелудочной железы лечат антителом против CSF1R (например, антителом против CSF1R, как представлено в настоящем описании, таким как антитело, содержащее CDR тяжелой и легкой цепи NuAB1) и ингибитором PD-1/PD-L1 (например, антителом против PD-1, содержащим CDR тяжелой цепи и легкой цепи ниволумаба или пембролизумаба, или слитым белком или пептидом ингибитора PD-1/PD-L1, таким как AMP-224 или AUR-012). В некоторых вариантах осуществления пациент имеет задокументированную локализованную или метастазирующую аденокарциному поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления пациенту могли ранее проводить хирургическое лечение и/или лучевую терапию. В некоторых вариантах осуществления пациента ранее не подвергали воздействию ингибитора PD-1/PD-L1, и в других вариантах осуществления пациент является рефрактерным по отношению к лечению ингибитором PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R вводят в дозе 0,1, 0,3, 1, 2, 3 или 4 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 вводят в дозе 0,5-10 мг/кг, такой как, например, 1, 2, 3, 4 или 5 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R и ингибитор PD-1/PD-L1 вводят, например, в одной из указанных выше доз раз в 1, 2, 3, 4 или 5 недель, например раз в 2 недели. В некоторых вариантах осуществления способов колоректальный рак лечат антителом против CSF1R (например, антителом против CSF1R, как представлено в настоящем описании, таким как антитело, содержащее CDR тяжелой и легкой цепи NuAB1) и ингибитором PD-1/PD-L1 (например, антителом против PD-1, содержащим CDR тяжелой цепи и легкой цепи ниволумаба или пембролизумаба, или слитым белком или пептидом ингибитора PD-1/PD-L1, таким как AMP-224 или AUR-012). В некоторых вариантах осуществления пациент имеет аденокарциному толстого кишечника или прямой кишки. В некоторых вариантах осуществления пациент имеет метастазирующий колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления пациент имеет метастазирующий колоректальный рак, несмотря на предшествующее лечение одним или несколькими из фторпиримидина, оксалиплатина, иринотекана, бевацизумаба, цетуксимаба или панитумумаба. В некоторых вариантах осуществления пациента ранее не подвергали воздействию ингибитора PD-1/PD-L1, и в других вариантах осуществления пациент является рефрактерным по отношению к лечению ингибитором PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R вводят в дозе приблизительно 0,1, приблизительно 0,3, приблизительно 0,5, приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5 или приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 вводят в дозе 0,1-10 мг/кг, такой как, например, приблизительно 0,1, приблизительно 0,3, приблизительно 0,5, приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5 или приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R и ингибитор PD-1/PD-L1 вводят, например, в одной из указанных выше доз раз в 1, 2, 3, 4 или 5 недель, например приблизительно раз в 2 недели. В некоторых вариантах осуществления введение антитела против CSF1R и ингибитора PD-1/PD-L1 приводит к синергическому действию на рост, массу и/или объем опухоли, сравниваемые в модели ксенотрансплантата рака поджелудочной железы мыши (такой как модель, содержащая клетки протоковой аденокарциномы поджелудочной железы (PDAC) мыши KRas^{G12D}/Ink4a^{-/-}), по сравнению с введением антитела против CSF1R или ингибитора PD-1/PD-L1 в отдельности.

В некоторых вариантах осуществления способов злокачественную глиому (например, глиобластому или глиосаркому) лечат антителом против CSF1R (например, антителом против CSF1R, как представлено в настоящем описании, таким как антитело, содержащее CDR тяжелой и легкой цепи NuAB1) и ингибитором PD-1/PD-L1 (например, антителом против PD-1, содержащим CDR тяжелой цепи и легкой цепи

ниволумаба или пембролизумаба, или слитым белком или пептидом ингибитора PD-1/PD-L1, таким как AMP-224 или AUR-012). В некоторых вариантах осуществления пациенту ранее проводили хирургическое лечение, лучевую терапию и/или терапию темозоломидом. В некоторых вариантах осуществления пациент имеет злокачественную глиому стадии IV. В некоторых вариантах осуществления пациента ранее не подвергали воздействию ингибитора PD-1/PD-L1, и в других вариантах осуществления пациент является рефрактерным по отношению к лечению ингибитором PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R вводят в дозе приблизительно 0,1, приблизительно 0,3, приблизительно 0,5, приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5 или приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 вводят в дозе 0,1-10 мг/кг, такой как, например, приблизительно 0,1, приблизительно 0,3, приблизительно 0,5, приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5 или приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R и ингибитор PD-1/PD-L1 вводят, например, в одной из указанных выше доз раз в 1, 2, 3, 4 или 5 недель, например приблизительно раз в 2 недели. В некоторых вариантах осуществления введение антитела против CSF1R и ингибитора PD-1/PD-L1 приводит к синергическому действию на рост, массу и/или объем опухоли, сравнимые в модели ксенотрансплантата глиомы мыши, по сравнению с введением антитела против CSF1R или ингибитора PD-1/PD-L1 в отдельности.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение одного или нескольких дополнительных противоопухолевых средств. В определенных вариантах осуществления противоопухолевое средство выбрано из группы, состоящей из антитела или его антигенсвязывающей части, специфически связывающегося с CTLA-4 ("антитела против CTLA-4 или его антигенсвязывающей части") и ингибирующего активность CTLA-4, химиотерапии, двухкомпонентной химиотерапии соединениями платины, ингибитора тирозинкиназы, ингибитора VEGF, ингибитора индоламин-пиррол-2,3-диоксигеназы (IDO) или любой их комбинации. В одном из вариантов осуществления противоопухолевое средство является ипилимумабом.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к композициям, содержащим антитело против CSF1R и ингибитор PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 является антителом. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 является антителом против PD-1. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит CDR тяжелой цепи и легкой цепи антитела, выбранного из ниволумаба и пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит переменные области тяжелой цепи и легкой цепи антитела, выбранного из ниволумаба и пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 выбрано из ниволумаба и пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 является антителом против PD-L1. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-L1 содержит CDR тяжелой цепи и легкой цепи антитела, выбранного из BMS-936559, MPDL3280A, MEDI4736 и MSB0010718C. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит переменные области тяжелой цепи и легкой цепи антитела, выбранного из BMS-936559, MPDL3280A, MEDI4736 и MSB0010718C. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 выбрано из BMS-936559, MPDL3280A, MEDI4736 и MSB0010718C. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 является слитым белком. В некоторых вариантах осуществления слитый белок является AMP-224.

В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, тяжелая цепь и/или легкая цепь антитела против CSF1R могут иметь описываемую ниже структуру.

В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, тяжелая цепь антитела против CSF1R может содержать последовательность, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45. В любом из способов, представленных в настоящем описании, легкая цепь антитела против CSF1R может содержать последовательность, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52. В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, тяжелая цепь антитела против CSF1R может содержать последовательность, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, и легкая цепь антитела против CSF1R может содержать последовательность, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, CDR1 HC, CDR2 HC и CDR3 HC антитела против CSF1R может содержать набор последовательностей, выбранных из (a) SEQ ID NO: 15, 16 и 17; (b) SEQ ID NO: 21, 22 и 23 и (c) SEQ ID NO: 27, 28 и 29. В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, CDR1 LC, CDR2 LC и CDR3 LC антитела против CSF1R может содержать набор последовательностей, выбранных из (a) SEQ ID NO: 18, 19 и 20; (b) SEQ

или 100% идентичной SEQ ID NO: 44, и легкую цепь, содержащую последовательность, являющуюся по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной SEQ ID NO: 51; (q) тяжелую цепь, содержащую последовательность, являющуюся по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной SEQ ID NO: 44, и легкую цепь, содержащую последовательность, являющуюся по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной SEQ ID NO: 52; (r) тяжелую цепь, содержащую последовательность, являющуюся по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной SEQ ID NO: 45, и легкую цепь, содержащую последовательность, являющуюся по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной SEQ ID NO: 51; или (s) тяжелую цепь, содержащую последовательность, являющуюся по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной SEQ ID NO: 45, и легкую цепь, содержащую последовательность, являющуюся по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной SEQ ID NO: 52.

В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, антитело против CSF1R может содержать: (a) тяжелую цепь, содержащую CDR1 тяжелой цепи (HC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 15, CDR2 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 16, и CDR3 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 17, и легкую цепь, содержащую CDR1 легкой цепи (LC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 18, CDR2 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 19, и CDR3 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 20; (b) тяжелую цепь, содержащую CDR1 тяжелой цепи (HC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 21, CDR2 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 22, и CDR3 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 23, и легкую цепь, содержащую CDR1 легкой цепи (LC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 24, CDR2 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 25, и CDR3 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 26; или (c) тяжелую цепь, содержащую CDR1 тяжелой цепи (HC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 27, CDR2 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 28, и CDR3 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 29, и легкую цепь, содержащую CDR1 легкой цепи (LC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 30, CDR2 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 31, и CDR3 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 32.

В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, антитело против CSF1R может содержать: (a) тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 60; (b) тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 61; или (c) тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 58, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, где антитело содержит: (a) тяжелую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 60; (b) тяжелую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 61; или (c) тяжелую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 58, и легкую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 65.

В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, антитело против CSF1R может связываться с CSF1R человека и/или CSF1R яванского макака. В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, антитело против CSF1R может блокировать связывание лиганда с CSF1R. В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, антитело против CSF1R может блокировать связывание CSF1 и/или ИЛ-34 с CSF1R. В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, антитело против CSF1R может блокировать связывание CSF1 и ИЛ-34 с CSF1R. В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, антитело против CSF1R может ингибировать индуцируемое лигандом фосфорилирование CSF1R. В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, антитело против CSF1R может ингибировать индуцируемое CSF1 и/или ИЛ-34 фосфорилирование CSF1R. В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, антитело против CSF1R может связываться с CSF1R человека с аффинностью (K_D) менее 1 нМ. В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, антитело против CSF1R может ингибировать ответы моноцитов с пролиферацией и/или выживаемостью в присутствии CSF1 или ИЛ-34.

В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, ингибитор PD-1/PD-L1 может являться антителом, таким как антитело против PD-1, с описываемой ниже структурой.

В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, ингибитор PD-1/PD-L1 может являться антителом, при этом тяжелая цепь антитела может содержать последовательность, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 100 и 101. В любом из способов, представленных в настоящем описании, ингибитор PD-1/PD-L1 может являться антителом с легкой цепью антитела, содержащей последовательность, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной

последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 102 и 103.

В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, ингибитор PD-1/PD-L1 может являться антителом с CDR1 тяжелой цепи (HC), CDR2 HC и CDR3 HC, содержащими набор последовательностей, выбранных из SEQ ID NO: 105, 107 и 109. В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, ингибитор PD-1/PD-L1 может являться антителом с CDR1 легкой цепи (LC), CDR2 LC и CDR3 LC, которые могут содержать набор последовательностей, выбранных из SEQ ID NO: 112, 114 и 116.

В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, ингибитор PD-1/PD-L1 может являться антителом, содержащим: (a) тяжелую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, являющуюся по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной SEQ ID NO: 100, и легкую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, являющуюся по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной SEQ ID NO: 102; (b) тяжелую цепь, содержащую последовательность константной области, являющуюся по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной SEQ ID NO: 101, и легкую цепь, содержащую последовательность константной области, являющуюся по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной SEQ ID NO: 103; (c) тяжелую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, являющуюся по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной SEQ ID NO: 100, и легкую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, являющуюся по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной SEQ ID NO: 102; и/или (d) тяжелую цепь, содержащую последовательность константной области, являющуюся по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной SEQ ID NO: 101, и легкую цепь, содержащую последовательность константной области, являющуюся по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной SEQ ID NO: 103.

В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, ингибитор PD-1/PD-L1 может являться антителом, содержащим: тяжелую цепь, содержащую CDR1 тяжелой цепи (HC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 105, CDR2 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 107, и CDR3 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 109, и легкую цепь, содержащую CDR1 легкой цепи (LC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 112, CDR2 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 114, и CDR3 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 116. В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, ингибитор PD-1/PD-L1 может являться антителом, содержащим тяжелую цепь, содержащую FR1 тяжелой цепи (HC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 104, FR2 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 106, FR3 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 108, и FR4 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 110; и/или легкую цепь, содержащую FR1 легкой цепи (LC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 111, FR2 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 113, FR3 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 115, и FR4 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 117.

В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, антитело против CSF1R или ингибитор PD-1/PD-L1 может являться гуманизированным или химерным антителом. В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, антитело против CSF1R или ингибитор PD-1/PD-L1 можно выбирать из Fab, Fv, scFv, Fab' и (Fab')₂. В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, антитело против CSF1R или ингибитор PD-1/PD-L1 можно выбирать из IgA, IgG и IgD. В любых из композиций или способов, представленных в настоящем описании, антитело против CSF1R или ингибитор PD-1/PD-L1 может являться IgG. В любом из способов, представленных в настоящем описании, антитело может являться IgG1, IgG2 или IgG4.

В любом из способов, представленных в настоящем описании, опухоль может экспрессировать или не экспрессировать PD-L1. В некоторых вариантах осуществления опухоль является PD-L1-положительной. В других вариантах осуществления опухоль является PD-L1-отрицательной. В любом из способов, представленных в настоящем описании, опухоль может экспрессировать или не экспрессировать PD-L2. В некоторых вариантах осуществления опухоль является PD-L2-положительной. В других вариантах осуществления опухоль является PD-L2-отрицательной.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1A-C представлено выравнивание гуманизованных вариабельных областей тяжелой цепи для каждого из гуманизованных антител huAb1-huAb16, как описано в примере 1. Остатки в рамках представляют собой аминокислоты в акцепторной последовательности человека, замененные обратно на соответствующий остаток мыши.

На фиг. 2A-C представлено выравнивание гуманизованных вариабельных областей легкой цепи для каждого из гуманизованных антител huAb1-huAb16, как описано в примере 1. Аминокислоты в рамках представляют собой остатки в акцепторной последовательности человека, замененные обратно на соответствующий остаток мыши.

Фиг. 3 является тепловой картой, на которой показана корреляция между экспрессией CSF1R и

Treg, экспрессией PD-L1/PD-1 и CD8+ Т-клетками при различных злокачественных новообразованиях.

На фиг. 4А показано среднее изменение объема опухоли с течением времени у мышей C57BL/6, подкожно инокулированных клетками колоректальной карциномы MC38, которым вводили антитело против CSF1R, антитело против PD-1, или комбинацию обоих антител, или контрольный IgG. Введение антител против CSF1R или против PD-1 снижало скорость роста MC38 по сравнению с контролем. Комбинация антитела против CSF1R и против PD-1 супрессировала рост MC38 в большей степени, чем любое лечение в отдельности ($P < 0,05$).

На фиг. 4В показаны объемы отдельных опухолей MC38, оцениваемые в день 11 после начала лечения (на фигуре представлены значения ρ). Статистическую значимость определяли посредством двухстороннего t-критерия для независимых выборок.

На фиг. 5 показана средняя масса опухоли у мышей C57BL/6, хирургически инокулированных клетками протоковой аденокарциномы поджелудочной железы (PDAC) мыши KRas^{G12D}/Ink4a^{-/-} клетками колоректальной карциномы, которым вводили антитело против CSF1R (дорожки, обозначенные "008"), антитело против PD-1 или комбинацию обоих антител совместно с гемцитабином (GEM). Лечение антителом против CSF1R или против PD-1 снижало опухолевую массу по сравнению с контрольными мышами. Комбинация антитела против CSF1R, против PD-1 и GEM значимо снижала опухолевую массу по сравнению с антителом против CSF1R и GEM или антителом против PD-1 и GEM (на фигуре представлены значения ρ). Статистическую значимость определяли посредством двухстороннего t-критерия для независимых выборок.

Фиг. 6 представляет собой описание исследуемых когорт для клинических экспериментов, описываемых в примерах 7 и 8, включающих huAB1 (также обозначаемый как FPA008) и ниволумаб.

На фиг. 7 представлены критерии повышения доз для клинических экспериментов, описываемых в примерах 7 и 8.

На фиг. 8 показано, что лечение антителом против CSF1R (обозначенным как смFPA008) повышает количество цитотоксических Т-клеток и экспрессию PD-L1 и других генов в двух моделях колоректальных опухолей мыши. Иммунокомпетентным мышам подкожно инокулировали клетки колоректальной карциномы MC38 (вверху) или CT26 (внизу) и вводили смFPA008 или IgG1 мыши в качестве контроля. Экспрессию генов оценивали в образцах опухоли ($n \geq 7$ на группу) и нормализовали относительно множества генов "домашнего хозяйства". Представленные значения экспрессии приведены относительно контрольного IgG. Статистическую значимость определяли посредством двухстороннего t-критерия для независимых выборок (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$).

Подробное описание

Опухولةассоциированные макрофаги (TAM) вовлечены в патогенез многих злокачественных новообразований и коррелируют с неблагоприятным прогнозом. Ингибирование CSF1R может снижать иммуносупрессорные TAM в мышинных моделях и опухолях человека. См., например, Ries et al., 2014, Cancer Cell, 25: 846-859; Ryontech et al., 2013, Nature Med., 19: 1264-1272; и Zhu et al., 2014, Cancer Res., 74: 5057-5069. Ингибирование CSF1R низкомолекулярными соединениями действует синергично с блокадой иммунных контрольных точек в модели опухоли поджелудочной железы. См. Zhu et al., 2014, Cancer Res., 74: 5057-5069. Без привязки к какой-либо конкретной теории настоящее изобретение относится к способам лечения опухолей, которые могут содержать CSF1R-экспрессирующие TAM и PD-1-экспрессирующие CD8+ Т-клетки и будут чувствительными к комбинированному лечению антителом против CSF1R и ингибитором PD-1/PD-L1. В некоторых случаях опухоли, содержащие CSF1R-экспрессирующие TAM и PD-1-экспрессирующие CD8+ Т-клетки, могут являться резистентными к монотерапии PD-1/PD-L1, но должны быть чувствительными к комбинированному лечению. Анализируя экспрессию, авторы настоящего изобретения идентифицировали конкретные типы опухолей, содержащие CSF1R-экспрессирующие TAM и PD-1-экспрессирующие CD8+ Т-клетки, включая в качестве неограничивающих примеров рак мочевого пузыря, рак шейки матки (такой как плоскоклеточный рак шейки матки), плоскоклеточную карциному головы и шеи (SCCHN), аденокарциному прямой кишки, немелкоклеточный рак легких (NSCLC), рак эндометрия, аденокарциному предстательной железы, рак толстого кишечника, рак яичников (такой как серозный эпителиальный рак яичников) и меланому. Аналогично, не желая быть связанными какой-либо конкретной теорией, полагают, что опухоли, имеющие высокие уровни CSF1R-экспрессирующих TAM, супрессирующих PD-1-экспрессирующие CD8+ Т-клетки, могут быть чувствительными к комбинированному лечению, например, т.к. ингибирование TAM антителом против CSF1R может повышать PD-1-экспрессирующие CD8+ Т-клетки, делая опухоль чувствительной к ингибитору PD-1/PD-L1.

Таким образом, настоящее изобретение относится к способам лечения злокачественного новообразования, включающим введение антитела против CSF1R и ингибитора PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 является антителом. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 является антителом, ингибирующим PD-1. В некоторых таких вариантах осуществления антитело против PD-1 нарушает связывание PD-L1 с PD-1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 является антителом, связывающимся с PD-L1. В некоторых таких вариантах осуществления антитело против PD-L1 нарушает связывание PD-L1 с PD-1. В некоторых вариантах осу-

шествления ингибитор PD-1/PD-L1 является слитым белком, нарушающим связывание PD-L1 с PD-1, таким как AMP-224. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 является пептидом, нарушающим связывание PD-L1 с PD-1, таким как AUR-012.

Как указано выше, в определенных вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 является анти-телом против PD-L1. В некоторых вариантах осуществления Ab против PD-L1 можно использовать вместо Ab против PD-1 в любых из терапевтических способов или композиций, представленных в настоящем описании. В определенных вариантах осуществления Ab против PD-L1 является BMS-936559 (ранее известное как 12A4 или MDX-1105) (см., например, патент США № 7943743; WO 2013/173223). В других вариантах осуществления Ab против PD-L1 является MPDL3280A (также известный как RG7446) (см., например, Herbst; патент США № 8217149) или MEDI4736 (Khleif, 2013).

Заголовки разделов, используемые в настоящем описании, предназначены исключительно для организационных целей, и их не следует истолковывать в качестве ограничения описываемого объекта изобретения. Все цитируемые в настоящем описании ссылки, включая патентные заявки и публикации, включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме для любой цели.

Определения.

Если не указано иначе, научные и технические термины, используемые в контексте настоящего изобретения, должны иметь значения, общепринято понимаемые специалистами в этой области. Кроме того, если контекст четко не указывает на иное, термины в единственном числе должны включать термины во множественном числе, и термины во множественном числе должны включать термины в единственном числе.

В этой области известны примеры способов, используемых в отношении рекомбинантной ДНК, синтеза олигонуклеотидов, культивирования и трансформации ткани (например, электропорации, липофекции), ферментативных реакций и способов очистки. Многие такие способы описывают, например, помимо других источников, в Sambrook et al. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)). Кроме того, в этой области также известны примеры способов химического синтеза, химических анализов, получения, составления и доставки фармацевтических препаратов и лечения пациентов.

В настоящей заявке термин "или" означает "и/или", если не указано иначе. Что касается пункта формулы изобретения, зависящего от другого зависимого пункта, использование термина "или" относится к нескольким предшествующим независимым или зависимым пунктам исключительно в качестве альтернативы. Кроме того, такие термины, как "элемент" или "компонент", включают элементы и компоненты, содержащие одну единицу, и элементы и компоненты, содержащие несколько субъединиц, если конкретно не указано иное.

Как представлено в настоящем описании, любой диапазон концентрации, диапазон процентных долей, диапазон соотношений или диапазон целых чисел следует понимать как включающий значение любого целого числа в пределах указанного диапазона и, при необходимости, его части (такие как одна десятая и одна сотая целого числа), если не указано иначе.

Единицы, префиксы и символы указаны в форме единиц метрической системы единиц измерения (СИ). Числовые диапазоны включают числа, определяющие диапазон. Заголовки, приведенные в настоящем описании, не предназначены для ограничения различных аспектов изобретения, описываемых со ссылкой на описание в целом. Таким образом, термины, определенные непосредственно ниже, более подробно определены со ссылкой на описание в полном объеме.

В рамках изобретения следующие термины, если не указано иначе, следует понимать как имеющие следующие значения.

Термин "введение" относится к физическому введению композиции, содержащей терапевтическое средство, индивидууму с использованием любого из различных способов и систем доставки, известных специалистам в этой области. Пути введения Ab против PD-1 и/или Ab против PD-L1 включают внутривенный, внутримышечный, подкожный, интраперитонеальный, спинальный или другие парентеральные пути введения, например, посредством инъекции или инфузии. В рамках изобретения фраза "парентеральное введение" означает способы введения, иные, чем энтеральное и местное введение, как правило, посредством инъекции, и включает в качестве неограничивающих примеров внутривенную, внутримышечную, внутриаартериальную, интратекальную, внутрелимфатическую инъекцию и инфузию, инъекцию и инфузию в очаг поражения, внутрикапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, интраперитонеальную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, эпидуральную и интрастеральную инъекцию и инфузию, а также электропорацию *in vivo*. Непарентеральные пути включают местный, эпидермальный или слизистый путь введения, например пероральный, интраназальный, вагинальный, ректальный, сублингвальный или местный. Введение также можно осуществлять, например, однократно, множество раз и/или в течение одного или нескольких длительных периодов времени.

В рамках изобретения термин "побочный эффект" (АЕ) означает любой неблагоприятный и, как правило, непреднамеренный или нежелательный признак (включая отклонения лабораторных показателей), симптом или заболевание, связанное с использованием лечения. Например, побочный эффект мо-

жет быть связан с активацией иммунной системы или экспансией клеток иммунной системы (например, Т-клеток) в ответ на лечение.

Лечение может иметь один или несколько ассоциированных АЕ, и каждый АЕ может иметь одинаковый или разный уровень тяжести. Ссылка на способы, способные "изменять побочные эффекты", означает схему лечения, снижающую частоту и/или тяжесть одного или нескольких АЕ, ассоциированных с использованием другой схемы лечения. Термины "молекула нуклеиновой кислоты" и "полинуклеотид" можно использовать взаимозаменяемо, и они относятся к полимеру нуклеотидов. Такие полимеры нуклеотидов могут содержать природные и/или неприродные нуклеотиды и включают в качестве неограничивающих примеров ДНК, РНК и ПНК. Термин "последовательность нуклеиновой кислоты" относится к линейной последовательности нуклеотидов, содержащей молекулу нуклеиновой кислоты или полинуклеотид.

Термины "полипептид" и "белок" используют взаимозаменяемо для обозначения полимера аминокислотных остатков, и его минимальная длина не ограничена. Такие полимеры аминокислотных остатков могут содержать природные или неприродные аминокислотные остатки и включают в качестве неограничивающих примеров пептиды, олигопептиды, димеры, тримеры и мультимеры аминокислотных остатков. Полноразмерные белки и их фрагменты включены в определение. Термины также включают постэкспрессионные модификации полипептида, например гликозилирование, сиамирование, ацетилирование, фосфорилирование и т.п. Кроме того, в целях по настоящему изобретению термин "полипептид" относится к белку, включающему модификации, такие как делеции, инсерции и замены (как правило, консервативные по своей природе), нативной последовательности, при условии, что белок сохраняет желаемую активность. Эти модификации могут быть умышленными, например, посредством сайт-специфического мутагенеза, или случайными, например, в результате мутаций в организмах-хозяевах, продуцирующих белки, или ошибок при ПЦР-амплификации.

В настоящем описании термин "CSF1R" относится к полноразмерному CSF1R, включающему N-концевую ECD, трансмембранный домен и внутриклеточный тирозинкиназный домен с N-концевой лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления CSF1R является CSF1R человека, имеющим аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. Термины "белок программируемой гибели клеток 1" и "PD-1" относятся к иммуноингибиторному рецептору, принадлежащему к семейству CD28. PD-1 экспрессируется преимущественно на предварительно активированных Т-клетках *in vivo* и связывается с двумя лигандами, PD-L1 и PD-L2. В рамках изобретения термин "PD-1" включает PD-1 человека (hPD-1), варианты, изоформы и гомологи hPD-1 других видов и аналоги, имеющие по меньшей мере один общий эпитоп с hPD-1. Полную последовательность hPD-1 можно найти в GenBank под регистрационным номером U64863. В некоторых вариантах осуществления PD-1 является PD-1 человека, имеющим аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 96 (предшественник с сигнальной последовательностью) или SEQ ID NO: 97 (зрелый без сигнальной последовательности).

Термины "лиганд 1 белка программируемой гибели клеток 1" и "PD-L1" (PD-L1; гомолог-1 B7; B7-H1 или CD274) и "лиганд-2 белка программируемой гибели" (PD-L2; B7-DC или CD273) означают два гликопротеиновых лиганда поверхности клетки для PD-1, отрицательно регулирующих активацию Т-клеток и секрецию цитокинов после связывания с PD-1. В рамках изобретения термин "PD-L1" включает PD-L1 человека (hPD-L1), варианты, изоформы и гомологи hPD-L1 других видов и аналоги, имеющие по меньшей мере один общий эпитоп с hPD-L1. Полную последовательность hPD-L1 можно найти в GenBank под регистрационным номером Q9NZQ7. В некоторых вариантах осуществления PD-L1 является PD-L1 человека, имеющим аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 98 (предшественник с сигнальной последовательностью) или SEQ ID NO: 99 (зрелый без сигнальной последовательности).

"Антиген-4 цитотоксических Т-лимфоцитов" (CTLA-4) относится к иммуноингибиторному рецептору, принадлежащему к семейству CD28. CTLA-4 экспрессируется исключительно на Т-клетках *in vivo* и связывается с двумя лигандами, CD80 и CD86 (также обозначаемыми как B7-1 и B7-2 соответственно). В рамках изобретения, термин "CTLA-4" включает CTLA-4 человека (hCTLA-4), варианты, изоформы и гомологи hCTLA-4 других видов и аналоги, имеющие по меньшей мере один общий эпитоп с hCTLA-4. Полную последовательность hCTLA-4 можно найти в GenBank под регистрационным номером AAB59385.

Термин "ингибитор PD-1/PD-L1" относится к остатку, прерывающему путь передачи сигнала PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор ингибирует путь передачи сигнала PD-1/PD-L1 посредством связывания с PD-1 и/или PD-L1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор также связывается с PD-L2. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 блокирует связывание PD-1 с PD-L1 и/или PD-L2. Неограничивающие примеры ингибиторов PD-1/PD-L1 включают антитела, связывающиеся с PD-1; антитела, связывающиеся с PD-L1; слитые белки, такие как AMP-224; и пептиды, такие как AUR-012.

Термин "антитело, ингибирующее PD-1" относится к антителу, связывающемуся с PD-1 или PD-L1 и, таким образом, ингибирующему передачу сигнала PD-1 и/или PD-L1. В некоторых вариантах осуществления антитело, ингибирующее PD-1, связывается с PD-1 и блокирует связывание PD-L1 и/или PD-L2

с PD-1. В некоторых вариантах осуществления антитело, ингибирующее PD-1, связывается с PD-L1 и блокирует связывание PD-1 с PD-L1. Антитело, ингибирующее PD-1, связывающееся с PD-L1, можно обозначать как антитело против PD-L1. Антитело, ингибирующее PD-1, связывающееся с PD-1, можно обозначать как антитело против PD-1.

В рамках изобретения термин "PD-L1-положительный" можно использовать взаимозаменяемо с термином "экспрессия PD-L1 по меньшей мере приблизительно 5%". Экспрессию PD-L1 можно измерять любыми известными в этой области способами. В некоторых вариантах осуществления экспрессию PD-L1 измеряют посредством автоматизированной ИНС. Таким образом, PD-L1-положительная опухоль может содержать по меньшей мере приблизительно 5%, по меньшей мере приблизительно 10% или по меньшей мере приблизительно 20% опухолевых клеток, экспрессирующих PD-L1, измеряемый посредством автоматизированной ИНС. В определенных вариантах осуществления термин "PD-L1-положительный" означает, что есть по меньшей мере 100 клеток, экспрессирующих PD-L1 на своей поверхности.

В рамках изобретения термин "PD-L2-положительный" можно использовать взаимозаменяемо с термином "экспрессия PD-L2 по меньшей мере приблизительно 5%". Экспрессию PD-L2 можно измерять любыми известными в этой области способами. В некоторых вариантах осуществления экспрессию PD-L2 измеряют посредством автоматизированной ИНС. Таким образом, PD-L2-положительная опухоль может содержать по меньшей мере приблизительно 5%, по меньшей мере приблизительно 10% или по меньшей мере приблизительно 20% опухолевых клеток, экспрессирующих PD-L2, измеряемый посредством автоматизированной ИНС. В определенных вариантах осуществления термин "PD-L2-положительный" означает, что есть по меньшей мере 100 клеток, экспрессирующих PD-L2 на своей поверхности.

Со ссылкой на антитела против CSF1R термин "блокирует связывание" лиганда, такого как CSF1 и/или ИЛ-34, и его грамматические варианты используют для обозначения способности ингибировать взаимодействие между CSF1R и лигандом CSF1R, таким как CSF1 и/или ИЛ-34. Такое ингибирование может происходить посредством любого механизма, включая прямое противодействие связыванию лиганда, например, в результате перекрывания участков связывания на CSF1R и/или конформационных изменений CSF1R, индуцируемых антителом, изменяющим аффинность лиганда, и т.д. Антитела и фрагменты антител, обозначаемые как "функциональные", отличаются такими свойствами.

Со ссылкой на антитела против PD-1 термин "блокирует связывание" лиганда, такого как PD-L1, и его грамматические варианты используют для обозначения способности ингибировать взаимодействие между PD-1 и лигандом PD-1, таким как PD-L1. Такое ингибирование может происходить посредством любого механизма, включая прямое противодействие связыванию лиганда, например, в результате перекрывания участков связывания на PD-1 и/или конформационных изменений PD-1, индуцируемых антителом, изменяющим аффинность лиганда, и т.д. Антитела и фрагменты антител, обозначаемые как "функциональные", отличаются такими свойствами.

Со ссылкой на антитела против PD-L1 термин "блокирует связывание" лиганда, такого как PD-1, и его грамматические варианты используют для обозначения способности ингибировать взаимодействие между PD-L1 и лигандом PD-L1, таким как PD-1. Такое ингибирование может происходить посредством любого механизма, включая прямое противодействие связыванию лиганда, например, в результате перекрывания участков связывания на PD-L1 и/или конформационных изменений PD-L1, индуцируемых антителом, изменяющим аффинность лиганда, и т.д. Антитела и фрагменты антител, обозначаемые как "функциональные", отличаются такими свойствами.

В рамках изобретения термин "антитело" относится к молекуле, содержащей, по меньшей мере, определяющую комплементарность область (CDR) 1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и по меньшей мере CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, где молекула способна связываться с антигеном. Термин "антитело" включает в качестве неограничивающих примеров фрагменты, способные связываться с антигеном, такие как Fv, одноцепочечный Fv (scFv), Fab, Fab' и (Fab)₂. Термин "антитело" также включает в качестве неограничивающих примеров химерные антитела, гуманизированные антитела и антитела различных видов, таких как мышь, человек, яванский макак и т.д.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит по меньшей мере одну тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи и по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи, и по меньшей мере одну легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи и по меньшей мере часть константной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит две тяжелые цепи, где каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи и по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи, и две легкие цепи, где каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи и по меньшей мере часть константной области легкой цепи. В рамках изобретения одноцепочечный Fv (scFv), или любое другое антитело, содержащее, например, одну полипептидную цепь, содержащую все шесть CDR (три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи), считают содержащим тяжелую цепь и легкую цепь. В некоторых таких вариантах осуществления тяжелая цепь является областью антитела, содержащей три CDR тяже-

лой цепи, и легкая цепь является областью антитела, содержащей три CDR легкой цепи.

В рамках изобретения термин "вариабельная область тяжелой цепи" относится к области, содержащей CDR1, каркасную область (FR) 2, CDR2, FR3 и CDR3 тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи также содержит по меньшей мере часть FR1 и/или по меньшей мере часть FR4. В некоторых вариантах осуществления CDR1 тяжелой цепи соответствует остаткам 26-35 по Kabat; CDR2 тяжелой цепи соответствует остаткам 50-65 по Kabat; и CDR3 тяжелой цепи соответствует остаткам 95-102 по Kabat. См., например, Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (1987 and 1991, NIH, Bethesda, Md.) и фиг. 1. В некоторых вариантах осуществления CDR1 тяжелой цепи соответствует остаткам 31-35 по Kabat; CDR2 тяжелой цепи соответствует остаткам 50-65 по Kabat; и CDR3 тяжелой цепи соответствует остаткам 95-102 по Kabat. См. выше.

В рамках изобретения термин "константная область тяжелой цепи" относится к области, содержащей по меньшей мере три константных домена тяжелой цепи, C_H1, C_H2 и C_H3. Неограничивающие примеры константных областей тяжелой цепи включают γ , δ и α . Неограничивающие примеры константных областей тяжелой цепи также включают ϵ и μ . Каждая константная область тяжелой цепи соответствует изотипу антитела. Например, антитело, содержащее константную γ -область, является антителом IgG, антитело, содержащее константную δ -область, является антителом IgD, и антитело, содержащее константную α -область, является антителом IgA. Кроме того, антитело, содержащее константную μ -область, является антителом IgM, и антитело, содержащее константную ϵ -область, является антителом IgE. Конкретные изотипы можно дополнительно подразделять на подклассы. Например, антитела IgG включают в качестве неограничивающих примеров антитела IgG1 (содержащее константную γ_1 -область), IgG2 (содержащее константную γ_2 -область), IgG3 (содержащее константную γ_3 -область) и IgG4 (содержащее константную γ_4 -область); антитела IgA включают в качестве неограничивающих примеров антитела IgA1 (содержащее константную α_1 -область) и IgA2 (содержащее константную α_2 -область); и антитела IgM включают в качестве неограничивающих примеров IgM1 и IgM2.

В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи содержит одну или несколько мутаций (или замен), инсерций или делеций, придающих антителу желаемые характеристики. Неограничивающим примером мутации является мутация S241P в шарнирной области IgG4 (между константными доменами C_H1 и C_H2), изменяющая мотив в IgG4 с CPSCP на CPPCP, схожим с соответствующим мотивом IgG1. В некоторых вариантах осуществления эта мутация приводит к получению более стабильного антитела IgG4. См., например, Angal et al., Mol. Immunol. 30: 105-108 (1993); Bloom et al., Prot. Sci. 6: 407-415 (1997); Schuurman et al., Mol. Immunol. 38: 1-8 (2001).

В рамках изобретения термин "тяжелая цепь" (сокращенно HC) относится к полипептиду, содержащему, по меньшей мере, вариабельную область тяжелой цепи с лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь содержит по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи. В рамках изобретения термин "полноразмерная тяжелая цепь" относится к полипептиду, содержащему вариабельную область тяжелой цепи и константную область тяжелой цепи с лидерной последовательностью или без нее.

В рамках изобретения термин "вариабельная область легкой цепи" относится к области, содержащей CDR1 легкой цепи, каркасную область (FR) 2, CDR2, FR3, и CDR3. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи также содержит FR1 и/или FR4. В некоторых вариантах осуществления CDR1 легкой цепи соответствует остаткам 24-34 по Kabat; CDR2 легкой цепи соответствует остаткам 50-56 по Kabat; и CDR3 легкой цепи соответствует остаткам 89-97 по Kabat. См., например, Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (1987 and 1991, NIH, Bethesda, Md.) и фиг. 1.

В рамках изобретения термин "константная область легкой цепи" относится к области, содержащей константный домен легкой цепи, C_L. Неограничивающие примеры константных областей легкой цепи включают λ и κ .

В рамках изобретения термин "легкая цепь" (сокращенно LC) относится к полипептиду, содержащему, по меньшей мере, вариабельную область легкой цепи с лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления легкая цепь содержит по меньшей мере часть константной области легкой цепи. В рамках изобретения термин "полноразмерная легкая цепь" относится к полипептиду, содержащему вариабельную область легкой цепи и константную область легкой цепи, с лидерной последовательностью или без нее.

В рамках изобретения термин "химерное антитело" относится к антителу, содержащему по меньшей мере одну вариабельную область первого вида (такого как мышь, крыса, яванский макак и т.д.) и по меньшей мере одну константную область второго вида (такого как человек, яванский макак и т.д.). В некоторых вариантах осуществления химерное антитело содержит по меньшей мере одну вариабельную область мыши и по меньшей мере одну константную область человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело содержит по меньшей мере одну вариабельную область яванского макака и по меньшей мере одну константную область человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело содержит по меньшей мере одну вариабельную область крысы и по меньшей мере одну константную область мыши. В некоторых вариантах осуществления все вариабельные области химерного

антитела получают из первого вида и все константные области химерного антитела получают из второго вида.

В рамках изобретения термин "гуманизированное антитело" относится к антителу, в котором по меньшей мере одну аминокислоту в каркасной области не принадлежащей человеку варибельной области заменяют соответствующей аминокислотой варибельной области человека. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит по меньшей мере одну константную область человека или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело является Fab, scFv, (Fab')₂ и т.д.

В рамках изобретения термин "антитело с пересаженными CDR" относится к гуманизированному антителу, в котором определяющие комплементарность области (CDR) первого (не являющегося человеком) вида пересаживают на каркасные области (FR) второго вида (человека).

В рамках изобретения термин "антитело человека" относится к антителам, продуцируемым людьми, антителам, продуцируемым не являющимися человеком животными, содержащими гены иммуноглобулинов человека, такими как XenoMouse®, и антителам, выбранным способами *in vitro*, такими как фаговый дисплей, где репертуар антитела основан на последовательностях иммуноглобулинов человека.

Термин Ab "против антигена" относится к Ab, специфически связывающемуся с антигеном. Например, Ab против PD-1 специфически связывается с PD-1, Ab против PD-L1 специфически связывается с PD-L1, и против CTLA-4 Ab специфически связывается с CTLA-4.

Термин "лидерная последовательность" относится к последовательности аминокислотных остатков, локализованных на N-конце полипептида, облегчающей секрецию полипептида клеткой млекопитающего. Лидерная последовательность может расщепляться после экспорта полипептида из клетки млекопитающего, образуя зрелый белок. Лидерные последовательности могут быть природными или синтетическими, и они могут быть гетерологичными или гомологичными белку, к которому они прикреплены.

Неограничивающие примеры лидерных последовательностей включают лидерные последовательности антитела, такие как, например, аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3 и 4, соответствующие лидерным последовательностям легкой и тяжелой цепи человека соответственно. Неограничивающие примеры лидерных последовательностей также включают лидерные последовательности из гетерологичных белков. В некоторых вариантах осуществления в антителе отсутствует лидерная последовательность. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит по меньшей мере одну лидерную последовательность, которую можно выбирать из нативных лидерных последовательностей антитела и гетерологичных лидерных последовательностей.

Термин "вектор" используют для описания полинуклеотида, который можно конструировать так, чтобы он содержал клонированный полинуклеотид или полинуклеотиды, который может реплицироваться в клетке-хозяине. Вектор может включать один или несколько из следующих элементов: участок начала репликации, одну или несколько регуляторных последовательностей (таких как, например, промоторы и/или энхансеры), регулирующих экспрессию интересующего полипептида, и/или один или несколько генов селективных маркеров (таких как, например, гены резистентности к антибиотикам и гены, которые можно использовать в колориметрических анализах, например, β-галактозидазу). Термин "экспрессирующий вектор" относится к вектору, используемому для экспрессии интересующего полипептида в клетке-хозяине.

Термин "клетка-хозяин" относится к клетке, которая может являться или является реципиентом вектора или выделенного полинуклеотида. Клетки-хозяева могут являться прокариотическими клетками или эукариотическими клетками. Примеры эукариотических клеток включают клетки млекопитающих, такие как клетки приматов или животных, не являющихся приматами; клетки грибов, таких как дрожжи; растительные клетки и клетки насекомых. Неограничивающие примеры клеток млекопитающих включают клетки NSO, клетки PER.C6® (Crucell), клетки 293 и CHO и их производные, такие как клетки 293-6E и DG44 соответственно.

В рамках изобретения термин "выделенный" относится к молекуле, отделенной, по меньшей мере, от некоторых из компонентов, с которыми ее, как правило, обнаруживают в природе. Например, полипептид обозначают как "выделенный", если его отделяют, по меньшей мере, от некоторых из компонентов клетки, в которой он продуцируется. Если полипептид секретруется клеткой после экспрессии, физическое отделение супернатанта, содержащего полипептид, от клетки, продуцирующей его, считают "выделением" полипептида. Аналогично, полинуклеотид обозначают как "выделенный", если он не является частью более крупного полинуклеотида (такого как, например, геномная ДНК или митохондриальная ДНК в случае полинуклеотида ДНК), в котором его, как правило, обнаруживают в природе, или отделяют, по меньшей мере, от некоторых из компонентов клетки, в которой он продуцируется, например, в случае полинуклеотида РНК. Таким образом, полинуклеотид ДНК, содержащийся в векторе внутри клетки-хозяина, можно обозначать как "выделенный" при условии, что этот полинуклеотид не обнаруживают в этом векторе в природе.

Термин "повышенный уровень" означает более высокий уровень белка в конкретной ткани индивидуума относительно той же ткани в контроле, таком как индивидуум или индивидуумы, не страдающие

злокачественным новообразованием или другим состоянием, представленным в настоящем описании. Повышенный уровень может являться результатом действия любого механизма, такого как повышенная экспрессия, повышенная стабильность, сниженная деградация, повышенная секреция, сниженное выведение белка и т.д.

Термин "снижают" или "снижает" означает более низкий уровень белка в конкретной ткани индивидуума по меньшей мере на 10%. В некоторых вариантах осуществления средство, такое как антитело, связывающееся с CSF1R, или ингибитор PD-1/PD-L1, снижает уровень белка в конкретной ткани индивидуума по меньшей мере на 15%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 25%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 35%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85% или по меньшей мере на 90%. В некоторых вариантах осуществления уровень белка снижен относительно уровня белка перед приведением в контакт со средством, таким как антитело, связывающееся с CSF1R, или ингибитор PD-1/PD-L1.

Термин "резистентный" при использовании в отношении резистентности к терапевтическому средству означает сниженный ответ или отсутствие ответа на стандартную дозу терапевтического средства относительно ответа индивидуума на стандартную дозу терапевтического средства в прошлом или относительно ожидаемого ответа схожего индивидуума со схожим нарушением на стандартную дозу терапевтического средства. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления индивидуум может быть резистентным к терапевтическому средству, хотя индивидууму ранее не вводили терапевтическое средство, или у индивидуума может развиваться резистентность к терапевтическому средству, хотя он мог отвечать на средство в одном или нескольких предыдущих случаях.

Термины "индивидуум" и "пациент" используют в настоящем описании взаимозаменяемо для обозначения человека. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение также относится к способам лечения других млекопитающих, включая в качестве неограничивающих примеров грызунов, обезьян, кошачьих, псовых, лошадей, крупный рогатый скот, свиней, овец, коз, лабораторных млекопитающих, сельскохозяйственных млекопитающих, спортивных млекопитающих и млекопитающих-домашних животных.

В рамках изобретения термин "образец" относится к композиции, получаемой из индивидуума, содержащего клеточное и/или другое молекулярное вещество, подлежащее характеристике, количественному анализу и/или идентификации, например, с учетом физических, биохимических, химических и/или физиологических характеристик. Примером образца является образец ткани.

Термин "образец ткани" относится к набору схожих клеток, полученных из ткани индивидуума. Источником образца ткани может являться твердая ткань, например, из свежего, замороженного и/или сохраненного образца органа или ткани, или биоптат, или аспират; кровь или любые компоненты крови; физиологические жидкости, такие как цереброспинальная жидкость, амниотическая жидкость, перитонеальная жидкость, синовиальная жидкость или интерстициальная жидкость; клетки, полученные в любое время в течение беременности или развития индивидуума. В некоторых вариантах осуществления образец ткани является биоптатом синовиальной оболочки и/или образцом синовиальной жидкости. В некоторых вариантах осуществления образец ткани является образцом синовиальной жидкости. Образец ткани также может представлять собой первичные или культивируемые клетки или линии клеток. Необязательно, образец ткани получают из пораженной ткани/органа. Образец ткани может содержать соединения, как правило, в природе не смешанные с тканью, такие как консерванты, антикоагулянты, буферы, фиксаторы, питательные вещества, антибиотики или т.п. В рамках изобретения термин "контрольный образец" или "контрольная ткань" относится к образцу, клетке или ткани, полученным из источника, который, как известно или как считают, не поражен заболеванием, от которого индивидуум лечат.

Для целей настоящего описания термин "срез" образца ткани означает часть или фрагмент образца ткани, такой как тонкий фрагмент ткани или клеточный срез из образца твердой ткани.

Термин "злокачественное новообразование" используют в настоящем описании для обозначения группы клеток, демонстрирующих аномально высокие уровни пролиферации и роста. Злокачественное новообразование может являться доброкачественным (также обозначаемый как доброкачественная опухоль), предзлокачественным или злокачественным. Злокачественные клетки могут являться злокачественными клетками твердой ткани или лейкозными злокачественными клетками. Термин "рост злокачественного новообразования" используют в настоящем описании для обозначения пролиферации или роста клетки или клеток, составляющих злокачественное новообразование, приводящее к соответствующему повышению размера или объема злокачественного новообразования.

Неограничивающие примеры злокачественного новообразования включают карциному, лимфому, бластомы, саркомы и лейкоз. Более конкретные неограничивающие примеры таких злокачественных новообразований включают плоскоклеточный рак, мелкоклеточный рак легких, злокачественное новообразование гипофиза, рак пищевода, астроцитому, саркому мягких тканей, немелкоклеточный рак легких (включая плоскоклеточный немелкоклеточный рак легких), аденокарциному легких, плоскоклеточную карциному легких, рак брюшины, печеночноклеточный рак, злокачественное новообразование желудоч-

но-кишечного тракта, рак поджелудочной железы, глиобластома, рак шейки матки, рак яичников, рак печени, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстого кишечника, колоректальный рак, карциному эндометрия или матки, карциному слюнной железы, рак почки, почечноклеточную карциному, рак печени, рак предстательной железы, рак женских наружных половых органов, рак щитовидной железы, печеночную карциному, злокачественное новообразование головного мозга, рак эндометрия, рак яичек, холангиокарциному, карциному желчного пузыря, рак желудка, меланому и различные типы рака головы и шеи (включая плоскоклеточную карциному головы и шеи).

Термин "рецидивирующее злокачественное новообразование" относится к злокачественному новообразованию, возвращающемуся после предыдущей схемы лечения, после которой был период времени, в течение которого злокачественное новообразование нельзя определить.

Термин "прогрессирующее злокачественное новообразование" означает злокачественное новообразование, увеличенное в размере или по распространению опухоли с начала схемы лечения. В определенных вариантах осуществления прогрессирующее злокачественное новообразование является злокачественным новообразованием, увеличенным в размере или по распространению опухоли по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40% или по меньшей мере на 50% с начала схемы лечения.

В качестве примера "противоопухолевое средство" способствует регрессированию злокачественного новообразования у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество лекарственного средства способствует регрессированию злокачественного новообразования до устранения злокачественного новообразования. Термин "способствует регрессированию злокачественного новообразования" означает, что введение эффективного количества лекарственного средства в отдельности или в комбинации с противоопухолевым средством приводит к снижению роста или размера опухоли, некрозу опухоли, снижению тяжести по меньшей мере одного симптома заболевания, повышению количества и длительности периодов времени без манифестации симптомов заболевания или профилактике ухудшения или инвалидизации по причине заболевания. Кроме того, термины "эффективный" и "эффективность" в отношении лечения включают фармакологическую эффективность и физиологическую безопасность. Термин "фармакологическая эффективность" относится к способности лекарственного средства способствовать регрессированию злокачественного новообразования у пациента. Термин "физиологическая безопасность" относится к уровню токсичности или других побочных физиологических эффектов на уровне клеток, органов и/или организма (неблагоприятные эффекты), являющихся результатом введения лекарственного средства.

В качестве примера в случае лечения опухолей терапевтически эффективное количество противоопухолевого средства может ингибировать рост клеток, ингибировать рост опухоли или снижать размер опухоли по меньшей мере на приблизительно 5%, по меньшей мере на приблизительно 10%, по меньшей мере на приблизительно 15%, по меньшей мере на приблизительно 20%, по меньшей мере на приблизительно 25%, по меньшей мере на приблизительно 30%, по меньшей мере на приблизительно 40%, по меньшей мере на приблизительно 50%, по меньшей мере на приблизительно 60%, по меньшей мере на приблизительно 70% или по меньшей мере на приблизительно 80%, по меньшей мере на приблизительно 90%, по меньшей мере на приблизительно 95% или по меньшей мере на приблизительно 100% относительно неподвергнутых лечению индивидуумов, относительно исходного значения или, в определенных вариантах осуществления, относительно пациентов, подвергнутых терапии стандартом лечения. В других вариантах осуществления изобретения регрессирование опухоли можно наблюдать, и оно может продолжаться в течение по меньшей мере приблизительно 20 дней, по меньшей мере приблизительно 40 дней или по меньшей мере приблизительно 60 дней. Несмотря на эти итоговые измерения терапевтической эффективности, при оценке иммунотерапевтических лекарственных средств также необходимо учитывать профили "связанных с иммунитетом" ответов.

В качестве примера в случае лечения опухолей терапевтически эффективное количество противоопухолевого средства может ингибировать рост клеток или рост опухоли по меньшей мере на приблизительно 20%, по меньшей мере на приблизительно 30%, по меньшей мере на приблизительно 40%, по меньшей мере на приблизительно 50%, по меньшей мере на приблизительно 60%, по меньшей мере на приблизительно 70% или по меньшей мере на приблизительно 80% относительно неподвергнутых лечению индивидуумов.

В других вариантах осуществления изобретения регрессирование опухоли можно наблюдать, и оно может продолжаться в течение по меньшей мере приблизительно 20 дней, по меньшей мере приблизительно 40 дней или по меньшей мере приблизительно 60 дней. Несмотря на эти итоговые измерения терапевтической эффективности, при оценке иммунотерапевтических лекарственных средств также необходимо учитывать профили "связанных с иммунитетом" ответов.

Термин "связанный с иммунитетом" профиль ответа относится к профилю клинического ответа, часто наблюдаемого у пациентов со злокачественным новообразованием, которых лечили иммунотерапевтическими средствами, приводящими к противоопухолевым эффектам посредством индукции опухолеспецифических иммунных ответов или посредством модификации процессов врожденного иммунитета. Этот профиль ответа отличается благоприятным терапевтическим эффектом, следующим исходному

повышению опухолевой массы или появлению новых очагов поражения, которые при оценке общепринятых химиотерапевтических средств будут классифицировать как прогрессирование заболевания и которые будут синонимичны бездействию лекарственного средства. Таким образом, для правильной оценки иммунотерапевтических средств может потребоваться длительный мониторинг эффектов этих средств в отношении целевого заболевания.

"Химиотерапевтическое средство" является химическим соединением, применимым в лечении злокачественного новообразования. Неограничивающие примеры химиотерапевтических средств включают алкилирующие средства, такие как тиотепа и циклофосфамид Cytoxan®; алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая алтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфамид, триэтилентиофосфамид и триметилломеламин; ацетогенины (особенно буллатацин и буллатацинон); камптотecin (включая синтетический аналог топотекан); бриостатин; каллистатин; СС-1065 (включая его синтетические аналоги адозелесин, карзелесин и бизелесин); криптофицины (в частности, криптофицин 1 и криптофицин 8); доластатин; дуокармицин (включая синтетические аналоги KW-2189 и СВ1-ТМ1); элеутеробин; панкреатистатин; саркодиктин; спонгистатин; азотистые иприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорфосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлоретамин, гидроксид оксида мехлоретамина, мелфалан, новэмбихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урацильный иприт; нитрозомочевины, такие как кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин и ранимустин; антибиотики, такие как энединозные антибиотики (например, калихимидин, особенно калихеамицин гамма II и калихимидин омега II (см., например, Agnew, Chem Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994))); динемидин, включая динемидин А; бисфосфонаты, такие как клодронат; эсперамицин; а также хромофор неокарцинонстатина и родственные хромопротеиновые энединозные антибиотические хромофоры), аклациномицины, актиномицин, антрамицин, азасерин, блеомицины, актиномицин, карабицин, карминомицин, карцинофилин, хромомицины, дактиномицин, даунорубин, деторубин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, ADRIAMYCIN® доксорубин (включая морфолино-доксорубин, цианоморфолино-доксорубин, 2-пирролино-доксорубин и дезоксидоксорубин), эпирубин, эзорубин, идарубин, марселломицин, митомицины, такие как митомицин С, микофеноловая кислота, ногаламицин, оливомицин, пепломицин, порфирамицин, пуромицин, квеламицин, родорубин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностатин, зорубин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; аналоги пурина, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидина, такие как анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидеоксицидин, доксифлуридин, эноцитабин, флорсуридин; андрогены, такие как калустерон, дромостанолонпропионат, эпитиостанол, мепитиостан, тестостерон; антиадреналовые средства, такие как аминоклутетимид, митотан, трилостан; добавку к фолиевой кислоте, такую как фролиновая кислота; ацеглатон; гликозид альдофосфамида; аминоклевулиновую кислоту; энилурацил; амсакрин; бестрабуцил; бисантрон; эдатраксат; дефофамин; демеколцин; диазикуон; элфорнитин; ацетат эллиптиния; эпотилон; этоглоцид; нитрат галлия; гидроксимочевину; литинан; лонидаинин; мэйтансиноиды, такие как мэйтансин и ансамитоцины; митогуазон; митоксантрон; мопиданмол; нитразерин; пентостатин; фенамет; пирарубин; лосоксантрон; подофиллиновую кислоту; 2-этилгидразид; прокарабин; полисахаридный комплекс PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); разоксан; ризоксин; сизофирин; спирогерманий; тенуазоновую кислоту; триазиквон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; трихотены (особенно токсин Т-2, верракурин А, роридин А и ангуидин); уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин;

арабинозид ("Ara-C"); циклофосфамид; тиотепа; таксоиды, например паклитаксел TAXOL® (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), несодержащий кремофор ABRAXANE®, сконструированный на базе альбумина наночастичный состав паклитаксела (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois) и доксетаксел Taxotere® (Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France); хлорамбуцил; гемцитабин Gemzar®; 6-тиогуанин;

меркаптопурин; метотрексат; аналоги платины, такие как цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин; винбластин; платину; этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксантрон; винкристин; винорелбин Navelbine®; новантрон; тенифозид; эдатраксат; дауномицин; аминоклутетин; кселода; ибандронат; иринотекан (камптосар, СРТ-11) (включая схему лечения иринотеканом с 5-FU и лейковорином); ингибитор топоизомеразы RFS 2 000; дифформетилорнитин (DMFO); ретиноиды, такие как ретиноевая кислота; капецитабин; комбретагатин; лейковорин (LV); оксалиплатин, включая схему лечения оксалиплатином (FOLFOX); ингибиторы РКС-α, Raf, H-Ras, EGFR (например, эрлотиниб (Tarceva®)) и VEGF-A, снижающие клеточную пролиферацию, и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из указанного выше.

Дополнительные неограничивающие примеры химиотерапевтических средств включают противогормональные средства, регулирующие или ингибирующие действие гормонов на злокачественные новообразования, такие как антиэстрогены и селективные модуляторы рецепторов эстрогена (SERM), включая, например, тамоксифен (включая тамоксифен Nolvadex®), ралоксифен, дролоксифен, 4-

гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон и торемифен Fareston®; ингибиторы ароматазы, ингибирующие фермент ароматазу, регулирующую продукцию эстрогена в надпочечниках, такие как, например, 4(5)-имидазолы, аминоклутетимид, мегестрол ацетат Megase®, экземестан Aromasin®, форместанин, фадрозол, ворозол Rivosor®, летрозол Femara® и анастрозол Arimidex®; и антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, лейпролид и гозерелин; а также троксацетабин (1,3-диоксолановый аналог нуклеозида цитозина); антисмысловые олигонуклеотиды, в частности, те, которые ингибируют экспрессию генов в путях передачи сигнала, вовлеченных в aberrантную клеточную пролиферацию, таких как, например, PKC- α , Ralf и H-Ras; рибозимы, такие как ингибитор экспрессии VEGF (например, рибозим Angiozyme®) и ингибитор экспрессии HER2; вакцины, такие как генотерапевтические вакцины, например вакцина Allovectin®, вакцина Leuvectin® и вакцина Vaxid®; Proleukin® rIL-2; ингибитор топоизомеразы 1 Lurtotecan®; Abarelix® gmRH; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из указанного выше.

Термин "антиангиогенное средство" или "ингибитор ангиогенеза" относится к низкомолекулярному веществу, полинуклеотиду (включая, например, ингибиторную РНК (РНКи или миРНК)), полипептиду, выделенному белку, рекомбинантному белку, антителу или их конъюгатам или слитым белкам, ингибирующим ангиогенез, васкулогенез или нежелательную проницаемость сосудов как прямо, так и косвенно. Следует понимать, что антиангиогенное средство включает средства, связывающиеся и блокирующие ангиогенную активность ангиогенного фактора или его рецептора. Например, антиангиогенное средство является антителом или другим антагонистом ангиогенного средства, например, антителами против VEGF-A (например, бевацизумабом (Avastin®)) или против рецептора VEGF-A (например, рецептора KDR или рецептора Flt-1), ингибиторы PDGFR, такие как Gleevec® (иматиниба мезилат), низкомолекулярные соединения, блокирующие передачу сигнала через рецептор VEGF (например, РТК787/ZK2284, SU6668, Sutent®/SU11248 (сунитиниба малат), AMG706 или описываемые, например, в международной патентной заявке № WO 2004/113304). Антиангиогенные средства также включают нативные ингибиторы ангиогенеза, например ангиостатин, эндостатин и т.д. См., например, Klagsbrun и D'Amore (1991) *Annu. Rev. Physiol.* 53:217-39; Streit and Detmar (2003) *Oncogene* 22:3172-3179 (например, табл. 3, в которой описывают антиангиогенную терапию при злокачественной меланоме); Ferrara & Alitalo (1999) *Nature Medicine* 5(12):1359-1364; Tonini et al. (2003) *Oncogene* 22:6549-6556 (например, табл. 2, в которой указаны ангиогенные факторы); и Sato (2003) *Int. J. Clin. Oncol.* 8:200-206 (например, табл. 1, в которой указаны антиангиогенные средства, используемые в клинических испытаниях).

В рамках изобретения термин "ингибирующее рост средство" относится к соединению или композиции, ингибирующей рост клеток (таких как клетки, экспрессирующие VEGF) *in vitro* или *in vivo*. Таким образом, ингибирующее рост средство может являться средством, значительно снижающим процентную долю клеток (таких как клетка, экспрессирующая VEGF) в S-фазе.

Неограничивающие примеры ингибирующих рост средств включают средства, блокирующие прохождение клеточного цикла (в момент иной, чем S-фаза), такие как средства, индуцирующие арест клеточного цикла в G1-фазе и M-фазе. Классические блокаторы M-фазы включают алкалоиды барвинка (винкристин и винбластин), таксаны и ингибиторы топоизомеразы II, такие как доксорубин, эпирубин, даунорубин, этопозид и блеомицин. Средства, вызывающие арест клеточного цикла в G1-фазе, также вызывают арест в S-фазе, например ДНК-алкилирующие средства, такие как тамоксифен, преднизон, дакарбазин, мехлоретамин, цисплатин, метотрексат, 5-фторурацил и ага-С. Дополнительную информацию можно найти в Mendelsohn and Israel, eds., *The Molecular Basis of Cancer*, гл. 1 под названием "Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs" Murakami et al. (W.B. Saunders, Philadelphia, 1995), например, р. 13. Таксаны (паклитаксел и доцетаксел) являются противоопухолевыми лекарственными средствами, получаемыми из тисового дерева. Доцетаксел (Taxotere®, Rhone-Poulenc Rorer), получаемый из тиса европейского, является полусинтетическим аналогом паклитаксела (Taxol®, Bristol-Myers Squibb). Паклитаксел и доцетаксел способствуют сборке микротрубочек из димеров тубулина и стабилизируют микротрубочки, предотвращая деполимеризацию, что приводит к ингибированию митоза клеток.

Термин "антинеопластическая композиция" относится к композиции, применимой в лечении злокачественного новообразования, содержащей по меньшей мере одно активное терапевтическое средство. Неограничивающие примеры терапевтических средств включают, например, химиотерапевтические средства, ингибирующие рост средства, цитотоксические средства, средства, используемые в лучевой терапии, антиангиогенные средства, противоопухолевые иммунотерапевтические средства, апоптогенные средства, антитубулиновые средства и другие средства для лечения злокачественного новообразования, такие как антитела против HER-2, антитела против CD20, антагонист рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) (например, ингибитор тирозинкиназы), ингибитор HER1/EGFR (например, эрлотиниб (Tarceva®), ингибиторы фактора роста тромбоцитов (например, Gleevec® (иматиниба мезилат)), ингибитор COX-2 (например, целекоксиб), интерфероны, ингибиторы CTLA-4 (например, антитело против CTLA ипелимумаб (YERVOY®)), ингибиторы PD-1 (например, антитела против PD-1, BMS-936558), ингибиторы PD-L1 (например, антитела против PD-L1, MPDL3280A), ингибиторы PD-L2 (например, антитела против PD-L2), ингибиторы TIM3 (например, антитела против TIM3), цитокины, антагонисты

(например, нейтрализующие антитела), связывающиеся с одной или несколькими из следующих мишеней: erbB2, erbB3, ErbB4, PDGFR- β , BlyS, APRIL, BCMA, PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, TIM3 или рецепторы VEGF, TRAIL/Apo2, и другие биоактивные и органические химические средства и т.д. Их комбинации также включены в настоящее изобретение.

Средство "противодействует" активности фактора, если средство нейтрализует, блокирует, ингибирует, устраняет, снижает и/или противодействует активности фактора, включая его связывание с одним или несколькими рецепторами, если фактор является лигандом.

В рамках изобретения термин "лечение" относится к терапевтическому лечению и профилактическому лечению, где целью является профилактика или замедление (уменьшение) целевого патологического состояния или нарушения. В определенных вариантах осуществления термин "лечение" охватывает любое введение или применение терапевтического средства в случае заболевания у млекопитающего, включая человека, и включает ингибирование или замедление заболевания или прогрессирования заболевания; частичное или полное облегчение заболевания, например, посредством индуцирования регрессирования или восстановления утраченной, отсутствующей или дефектной функции; стимуляцию неэффективного процесса или достижение плато заболевания со сниженной тяжестью. Термин "лечение" также включает снижение тяжести любой фенотипической характеристики и/или снижение частоты, степени или вероятности этой характеристики. Нуждающиеся в лечении включают тех, у кого уже есть нарушение, а также предрасположенных к нарушению, или тех, у кого нарушение подвергают профилактике.

В рамках изобретения термины "перед лечением" или "исходное значение" относятся к состоянию индивидуума перед проведением конкретной терапии, например перед введением противоопухолевого средства, например, иммунотерапевтического средства, например Ab против PD-1 или его антигенсвязывающей части или Ab против CSF1R или его антигенсвязывающей части. Термин "перед лечением" может относиться к состоянию индивидуума, которого не подвергали лечению, или индивидуума, которого подвергали одной или нескольким предшествующим терапиям. Таким образом, индивидуума можно рассматривать как индивидуума "перед лечением", даже если индивидууму проводили некоторую форму лечения или терапии в какой-либо период перед лечением или терапией по настоящему изобретению. Кроме того, термин "перед лечением" может относиться к любому времени вплоть до момента проведения лечения. Например, термин "перед лечением" может включать недели, дни, часы, минуты или секунды перед проведением лечения. В одном конкретном варианте осуществления образец "перед лечением" можно получать из индивидуума непосредственно перед введением первой дозы терапевтического средства. Термины "перед лечением" и "исходное значение" в настоящем описании используют взаимозаменяемо.

В рамках изобретения термин "в ходе лечения" относится к состоянию индивидуума, которому вводили одну или несколько исходных доз конкретного терапевтического средства, например противоопухолевого средства, например, иммунотерапевтического средства, например Ab против PD-1 или его антигенсвязывающей части или Ab против CSF1R или его антигенсвязывающей части. Термин "в ходе лечения" может относиться к индивидууму, которому вводили только однократную дозу, или индивидууму, которому вводили множество доз Ab против PD-1 или его антигенсвязывающей части или Ab против CSF1R или его антигенсвязывающей части. В некоторых аспектах термин "в ходе лечения" относится к индивидууму, которого подвергают воздействию непрерывной схемы лечения конкретным терапевтическим средством, например индивидуума лечат Ab против PD-1 или его антигенсвязывающей частью или Ab против CSF1R или его антигенсвязывающей частью. В определенных вариантах осуществления образец "в ходе лечения" можно получать из индивидуума приблизительно в день 1, приблизительно в день 2, приблизительно в день 3, приблизительно в день 4, приблизительно в день 5, приблизительно в день 6, приблизительно в день 7, приблизительно в день 8, приблизительно в день 9, приблизительно в день 10, приблизительно в день 11, приблизительно в день 12, приблизительно в день 13, приблизительно в день 14, приблизительно в день 15, приблизительно в день 16, приблизительно в день 17, приблизительно в день 18, приблизительно в день 19, приблизительно в день 20, приблизительно в день 21 или любой их комбинации, где терапевтическое средство вводят в день 1. В определенных вариантах осуществления лечение представляет собой введение Ab против PD-1 или его антигенсвязывающей части или Ab против PD-L1 или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления Ab против PD-1 или его антигенсвязывающую часть или Ab против CSF1R или его антигенсвязывающую часть вводят в день 1 каждого 21-дневного цикла. В определенных вариантах осуществления образец "в ходе лечения" получают из индивидуума приблизительно в день 1, приблизительно в день 2, приблизительно в день 3, приблизительно в день 4, приблизительно в день 5, приблизительно в день 6, приблизительно в день 7, приблизительно в день 8, приблизительно в день 9, приблизительно в день 10, приблизительно в день 11, приблизительно в день 12, приблизительно в день 13, приблизительно в день 14, приблизительно в день 15, приблизительно в день 16, приблизительно в день 17, приблизительно в день 18, приблизительно в день 19, приблизительно в день 20, или приблизительно в день 21 21-дневного цикла или любой их комбинации. В одном конкретном варианте осуществления образец "в ходе лечения" получают в день 1 цикла 1, день 1 цикла 2, день 8 цикла 2, в день 1 цикла 4 или любую их комбинацию. В одном из вариантов

осуществления образец "в ходе лечения" получают в день 8 цикла 2.

Образцы "перед лечением" и "в ходе лечения" можно получать посредством биопсии опухоли (например, толстоигольной биопсии), частичной или полной хирургической резекции, забора крови или любым другим известным в этой области способом. В определенных вариантах осуществления участки опухоли, выбранные для биопсии, ранее не подвергали лучевой терапии.

Термин "иммунотерапия" относится к лечению индивидуума, страдающего заболеванием или имеющего риск возникновения или рецидивирования заболевания, способом, включающим индуцирование, усиление, супрессию или иную модификацию иммунного ответа.

Термин "эффективное количество" или "терапевтически эффективное количество" относится к количеству лекарственного средства, эффективного для лечения заболевания или нарушения у индивидуума. В определенных вариантах осуществления эффективное количество относится к количеству, в необходимых дозах и в течение необходимых периодов времени эффективному для достижения желаемого терапевтического или профилактического результата. Терапевтически эффективное количество антитела против CSF1R и/или ингибитора PD-1/PD-L1 по изобретению может варьироваться в зависимости от таких факторов, как состояние заболевания, возраст, пол и масса тела индивидуума и способность антитела или антител вызывать желаемый ответ у индивидуума. Терапевтически эффективное количество включает количество, при котором любые токсические или неблагоприятные эффекты антитела или антител перевешиваются терапевтически положительными эффектами. В некоторых вариантах осуществления выражение "эффективное количество" относится к количеству антитела, эффективному для лечения злокачественного новообразования. Термин "терапевтическое количество" относится к дозировке лекарственного средства, одобренного для применения регуляторным органом. В рамках изобретения термин "субтерапевтическое количество" относится к дозировке лекарственного средства или терапевтического средства, значительно меньшей, чем одобренная дозировка. Способность терапевтического средства способствовать регрессированию заболевания можно оценивать множеством способов, известных специалисту в этой области, такими как клинические испытания на людях, в системах моделей на животных, прогностических в отношении эффективности у людей, или посредством анализа активности средства в анализах *in vitro*.

Термин "профилактически эффективное количество" относится к количеству, в необходимых дозах и в течение необходимых периодов времени эффективному для достижения желаемого профилактического результата. Как правило, но необязательно, т.к. профилактическую дозу используют у индивидуумов перед развитием заболевания или на ранней стадии заболевания, профилактически эффективное количество будет меньшим, чем терапевтически эффективное количество.

Индивидуума можно охарактеризовывать как подвергнутого одной или нескольким "предшествующим терапиям" или как "неподвергнутого лечению". В рамках изобретения, если не указано иначе, термин "предшествующая терапия" относится к любой предшествующей системной терапии злокачественного новообразования. "Неподвергнутый лечению" индивидуум является индивидуумом, которого никогда не подвергали какой-либо предшествующей терапии в условиях метастазирования или вспомогательной терапии.

В рамках изобретения термин "первая доза" включает однократную дозу, но может представлять собой несколько доз, т.е. множество доз (по меньшей мере две дозы, по меньшей мере три дозы или более), вводимых перед введением "второй дозы", если вводят множество доз, для определения восприимчивости пациента к терапии Ab против PD-1 или против CSF1R Ab, т.е. дифференциальной экспрессии конкретных белков (например, PD-L1). Термин "первая доза" также может означать терапевтическую дозу, дозу более высокую, чем терапевтическая доза, или субтерапевтическую дозу.

В рамках изобретения термин "вторая доза" также может включать однократную дозу или множество доз, вводимых после первой дозы (однократной дозы или множества доз). Вторая доза может являться терапевтической дозой.

Использование термина "фиксированная доза" в отношении композиции или способа по изобретению означает, что два или более разных антитела в одной композиции присутствуют в композиции в конкретных (фиксированных) соотношениях. В некоторых вариантах осуществления фиксированная доза основана на массе (например, мг) антител. В определенных вариантах осуществления фиксированная доза основана на концентрации (например, мг/мл) антител. В некоторых вариантах осуществления соотношение составляет по меньшей мере приблизительно 1:1, приблизительно 1:2, приблизительно 1:3, приблизительно 1:4, приблизительно 1:5, приблизительно 1:6, приблизительно 1:7, приблизительно 1:8, приблизительно 1:9, приблизительно 1:10, приблизительно 1:15, приблизительно 1:20, приблизительно 1:30, приблизительно 1:40, приблизительно 1:50, приблизительно 1:60, приблизительно 1:70, приблизительно 1:80, приблизительно 1:90, приблизительно 1:100, приблизительно 1:120, приблизительно 1:140, приблизительно 1:160, приблизительно 1:180, приблизительно 1:200, приблизительно 200:1, приблизительно 180:1, приблизительно 160:1, приблизительно 140:1, приблизительно 120:1, приблизительно 100:1, приблизительно 90:1, приблизительно 80:1, приблизительно 70:1, приблизительно 60:1, приблизительно 50:1, приблизительно 40:1, приблизительно 30:1, приблизительно 20:1, приблизительно 15:1, приблизительно 10:1, приблизительно 9:1, приблизительно 8:1, приблизительно 7:1, приблизительно 6:1,

приблизительно 5:1, приблизительно 4:1, приблизительно 3:1 или приблизительно 2:1 мг первого антитела на мг второго антитела. Например, соотношение 3:1 первого антитела и второго антитела может означать, что сосуд может содержать приблизительно 240 мг первого антитела и 80 мг второго антитела или приблизительно 3 мг/мл первого антитела и 1 мг/мл второго антитела.

Использование термина "базовая доза" в отношении композиции по изобретению означает дозу, вводимую пациенту с учетом массы тела или площади поверхности тела (BSA) пациента. Таким образом, базовую дозу выражают не в мг/кг, а как абсолютное количество средства (например, антитела против CSF1R и/или ингибитор PD-1/PD-L1). Например, индивидууму массой 60 кг и индивидууму массой 100 кг будут вводить одинаковую дозу композиции (например, 240 мг антитела против PD-1 и 80 мг антитела против CSF1R в одном сосуде с составом с фиксированной дозой, содержащем 240 мг антитела против PD-1 и 80 мг антитела против CSF1R (или двух сосудах с составом с фиксированной дозой, содержащих 120 мг антитела против PD-1 и 40 мг антитела против CSF1R, и т.д.)).

В рамках изобретения термин "доза, зависящая от массы тела" означает, что дозу, вводимую пациенту, вычисляют с учетом массы тела пациента. Например, если в случае пациента с массой тела 60 кг необходимо 3 мг/кг антитела против PD-1 в комбинации с 1 мг/кг антитела против CSF1R, можно отбирать подходящие количества антитела против PD-1 (т.е. 180 мг) и антитела против CSF1R (т.е. 60 мг) одновременно из состава антитела против PD1 и антитела против CSF1R с фиксированной дозой в соотношении 3:1.

Введение "в комбинации с" одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами включает одновременное и последовательное введение в любом порядке.

Термин "фармацевтически приемлемый носитель" относится к нетоксичному твердому, полутвердому или жидкому наполнителю, дилуенту, инкапсулирующему материалу, вспомогательному средству или носителю, общепринятому в этой области для использования с терапевтическим средством, вместе составляющим "фармацевтическую композицию" для введения индивидууму. Фармацевтически приемлемый носитель является нетоксичным для реципиентов в используемых дозах и концентрациях и совместим с другими ингредиентами состава. Фармацевтически приемлемый носитель подходит для используемого состава. Например, если терапевтическое средство предназначено для перорального введения, носитель может являться желатиновой капсулой. Если терапевтическое средство предназначено для подкожного введения, носитель, в идеале, не раздражает кожу и не вызывает реакцию в месте инъекции.

Термин "рефрактерный" в отношении лечения означает отсутствие частичного или полного клинического ответа на это лечение. Например, пациентов можно считать рефрактерными к ингибитору PD-1 или PD-L1, если они не демонстрируют, по меньшей мере, частичный ответ после введения по меньшей мере 2 доз ингибитора.

Пациентов, классифицируемых как пациентов со "стадией III", или "стадией IIIB", или "стадией IV", или "стадией IV" и т.п., классифицируют, таким образом, в соответствии с системами классификации их конкретного заболевания. Например, пациентов с NSCLC можно классифицировать, например, как пациентов со "стадией IIIB" или "стадией IV" в соответствии с 7-й редакцией руководства по стадированию в торакальной онкологии International Association for the Study of Lung Cancer Staging manual. Пациентов с меланомой можно классифицировать как пациентов со "стадией III" или "IV" в соответствии с системой стадирования American Joint Committee on Cancer. Пациентов со злокачественной глиомой можно классифицировать как пациентов со "стадией IV" в зависимости от стандартов Всемирной организации здравоохранения.

Антитела против CSF1R.

Антитела против CSF1R включают в качестве неограничивающих примеров гуманизированные антитела, химерные антитела, антитела мыши, антитела человека и антитела, содержащие CDR тяжелой цепи и/или легкой цепи, представленные в настоящем описании.

Примеры гуманизированных антител.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к гуманизированным антителам, связывающимся с CSF1R. Гуманизированные антитела применимы в качестве терапевтических молекул, т.к. гуманизированные антитела снижают или устраняют иммунный ответ человека на не принадлежащие человеку антитела (такой как ответ с образованием антител человека против мыши (HAMA)), которые могут приводить к иммунному ответу на терапевтическое средство на основе антитела и сниженной эффективности терапевтического средства.

Неограничивающие примеры гуманизированных антител включают huAb1-huAb16, представленные в настоящем описании. Неограничивающие примеры гуманизированных антител также включают антитела, содержащие переменную область тяжелой цепи антитела, выбранного из huAb1-huAb16, и/или переменную область легкой цепи антитела, выбранного из huAb1-huAb16. Неограничивающие примеры гуманизированных антител включают антитела, содержащие переменную область тяжелой цепи, выбранную из SEQ ID NO: 39-45, и/или переменную область легкой цепи, выбранную из SEQ ID NO: 46-52. Неограничивающие примеры гуманизированных антител также включают гуманизированные антитела, содержащие CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи антитела, выбранного из 0301, 0302 и 0311.

В некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело против CSF1R содержит CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи антитела, выбранного из 0301, 0302 и 0311. Неограничивающие примеры гуманизованных антител против CSF1R включают антитела, содержащие наборы CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, выбранные из: SEQ ID NO: 15, 16 и 17; SEQ ID NO: 21, 22 и 23; и SEQ ID NO: 27, 28 и 29. Неограничивающие примеры гуманизованных антител против CSF1R также включают антитела, содержащие наборы CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, выбранные из: SEQ ID NO: 18, 19 и 20; SEQ ID NO: 24, 25 и 26 и SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

Неограничивающие примеры гуманизованных антител против CSF1R включают антитела, содержащие наборы CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи в табл. 1 (представлены SEQ ID NO; последовательности см. в табл. 8). В каждой строке табл. 1 представлены CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи примера антитела.

Таблица 1

CDR тяжелой цепи и легкой цепи

Ab	Тяжелая цепь			Легкая цепь		
	CDR1	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3
	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID
0301	15	16	17	18	19	20
0302	21	22	23	24	25	26
0311	27	28	29	30	31	32

Дополнительные примеры гуманизованных антител.

В некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело против CSF1R содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, и где антитело связывается с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело против CSF1R содержит легкую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52, где антитело связывается с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело против CSF1R содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45; и легкую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52; где антитело связывается с CSF1R.

В рамках изобретения то, является ли конкретный полипептид, например, по меньшей мере на 95% идентичным аминокислотной последовательности, можно определять с использованием, например, компьютерной программы. При определении того, является ли конкретная последовательность, например, на 95% идентичной референсной последовательности, процент идентичности вычисляют по всей длине референсной аминокислотной последовательности.

В некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну из CDR, представленных в настоящем описании. Т.е. в некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну CDR, выбранную из CDR1 тяжелой цепи, представленной в настоящем описании, CDR2 тяжелой цепи, представленной в настоящем описании, CDR3 тяжелой цепи, представленной в настоящем описании, CDR1 легкой цепи, представленной в настоящем описании, CDR2 легкой цепи, представленной в настоящем описании, и CDR3 легкой цепи, представленной в настоящем описании. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну мутантную CDR на основе CDR, представленной в настоящем описании, где мутантная CDR содержит 1, 2, 3 или 4 замены аминокислот относительно CDR, представленной в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько замен аминокислот являются консервативными аминокислотными заменами. Специалист в этой области может выбирать одну или несколько подходящих консервативных аминокислотных замен в конкретной последовательности CDR, где не прогнозируют, что подходящие кон-

сервативные аминокислотные замены будут значительно изменять связывающие свойства антитела, содержащие мутантную CDR.

Примеры гуманизированных антител против CSF1R также включают антитела, конкурирующие за связывание с CSF1R с антителом, представленным в настоящем описании. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к гуманизированному антителу против CSF1R, конкурирующему за связывание с CSF1R с антителом, выбранным из Fab 0301, 0302 и 0311; и бивалентным (т.е. содержащим две тяжелые цепи и две легкие цепи) версиям этих Fab.

Примеры константных областей гуманизированного антитела.

В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело, представленное в настоящем описании, содержит одну или несколько константных областей человека. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи человека имеет изотип, выбранный из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления человек константная область легкой цепи имеет изотип, выбранный из κ и λ . В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело, представленное в настоящем описании, содержит константную область IgG человека. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело, представленное в настоящем описании, содержит константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело, представленное в настоящем описании, содержит мутацию S241P в константной области IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело, представленное в настоящем описании, содержит константную область IgG4 человека и легкую κ -цепь человека.

Выбор константной области тяжелой цепи может определять то, будет ли антитело иметь эффекторную функцию *in vivo* или нет. В некоторых вариантах осуществления такая эффекторная функция включает антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC) и/или комплементзависимую цитотоксичность (CDC) и может приводить к уничтожению клетки, с которой связано антитело. В некоторых способах лечения, включая способы лечения некоторых злокачественных новообразований, желательным может являться уничтожение клеток, например, если антитело связывается с клеткой, способствующей поддержанию или росту опухоли. Неограничивающие примеры клеток, которые могут способствовать поддержанию или росту опухоли, включают сами опухолевые клетки, клетки, способствующие рекрутированию сосудистой сети в опухоль, и клетки, продуцирующие лиганды, факторы роста или контррецепторы, поддерживающие или стимулирующие рост опухоли или выживание опухоли. В некоторых вариантах осуществления, если эффекторная функция является желательной, выбирают антитело против CSF1R, содержащее тяжелую цепь IgG1 человека или тяжелую цепь IgG3 человека.

Антитело можно гуманизировать любым способом. Неограничивающие примеры способов гуманизации включают способы, описываемые, например, в патентах США №№ 5530101; 5585089; 5693761; 5693762; 6180370; Jones et al., Nature 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332: 323-27 (1988); Verhoeven et al., Science 239: 1534-36 (1988); и патентной публикации США № 2009/0136500.

Как указано выше, гуманизированное антитело является антителом, в котором по меньшей мере одну аминокислоту в каркасной области не принадлежащей человеку вариабельной области заменяют аминокислотой из соответствующего положения в каркасной области человека. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере две, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь, по меньшей мере девять, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 15 или по меньшей мере 20 аминокислот в каркасных областях не принадлежащей человеку вариабельной области заменяют аминокислотой из одного или нескольких соответствующих положений в одной или нескольких каркасных областях человека.

В некоторых вариантах осуществления некоторые из соответствующих аминокислот человека, используемых для замены, получают из каркасных областей разных генов иммуноглобулинов человека. Т.е. в некоторых таких вариантах осуществления одну или несколько не принадлежащих человеку аминокислот можно заменять соответствующими аминокислотами из каркасной области человека, получаемой из первого антитела человека или кодируемой первым геном иммуноглобулина человека, одну или несколько не принадлежащих человеку аминокислот можно заменять соответствующими аминокислотами из каркасной области человека, получаемой из второго антитела человека или кодируемой вторым геном иммуноглобулина человека, одну или несколько не принадлежащих человеку аминокислот можно заменять соответствующими аминокислотами каркасной области человека, получаемой из третьего антитела человека или кодируемой третьим геном иммуноглобулина человека, и т.д. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления все из соответствующих аминокислот человека, используемых для замены в одной каркасной области, например FR2, можно получать не из одного и того же каркаса человека. Однако в некоторых вариантах осуществления все из соответствующих аминокислот человека, используемых для замены, получают из одного антитела человека, или их кодирует один и тот же ген иммуноглобулина человека.

В некоторых вариантах осуществления антитело гуманизируют, заменяя одну или несколько полных каркасных областей соответствующими каркасными областями человека. В некоторых вариантах

осуществления выбирают каркасную область человека, имеющую наиболее высокий уровень гомологии по отношению к не принадлежащей человеку каркасной области, подвергаемой замене. В некоторых вариантах осуществления такое гуманизованное антитело является антителом с пересаженными CDR.

В некоторых вариантах осуществления после пересадки CDR одну или несколько аминокислот каркаса заменяют обратно соответствующей аминокислотой каркасной области мышцы. В некоторых вариантах осуществления такие "обратные мутации" осуществляют для сохранения одной или нескольких аминокислот каркаса мышцы, по-видимому, вносящих вклад в структуру одной или нескольких CDR, и/или которые могут участвовать в контактах с антигеном, и/или, по-видимому, вносящих вклад в общую структурную целостность антитела. В некоторых вариантах осуществления осуществляют десять или менее, девять или менее, восемь или менее, семь или менее, шесть или менее, пять или менее, четыре или менее, три или менее, два или менее, одну или ноль обратных мутаций в каркасных областях антитела после пересадки CDR.

В некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело также содержит константную область тяжелой цепи человека и/или константную область легкой цепи человека.

Примеры химерных антител.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R является химерным антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну не принадлежащую человеку вариabельную область и по меньшей мере одну константную область человека. В некоторых таких вариантах осуществления все из вариabельных областей антитела против CSF1R являются не принадлежащими человеку вариabельными областями, и все из константных областей антитела против CSF1R являются константными областями человека. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько вариabельных областей химерного антитела являются вариabельными областями мышцы. Константную область человека из химерного антитела можно получать не из того же изотипа, к которому принадлежит не принадлежащая человеку константная область, при ее наличии, которой ее заменяют. Химерные антитела описывают, например, в патенте США № 4816567; и Morrison et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-55 (1984).

Неограничивающие примеры химерных антител включают химерные антитела, содержащие вариabельные области тяжелой и/или легкой цепи антитела, выбранного из 0301, 0302 и 0311. Дополнительные неограничивающие примеры химерных антител включают химерные антитела, содержащие CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи антитела, выбранного из 0301, 0302 и 0311.

Неограничивающие примеры химерных антител против CSF1R включают антитела, содержащие следующие пары вариabельных областей тяжелой и легкой цепи: SEQ ID NO: 9 и 10; SEQ ID NO: 11 и 12 и SEQ ID NO: 13 и 14.

Неограничивающие примеры антитела против CSF1R включают антитела, содержащие набор CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных выше в табл. 1.

Дополнительные примеры химерных антител.

В некоторых вариантах осуществления химерное антитело против CSF1R содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность вариabельной области, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, где антитело связывается с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело против CSF1R содержит легкую цепь, содержащую последовательность вариabельной области, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52, где антитело связывается с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело против CSF1R содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность вариabельной области, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45; и легкую цепь, содержащую последовательность вариabельной области, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52; где антитело связывается с CSF1R.

В некоторых вариантах осуществления химерное антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну из CDR, представленных в настоящем описании. Т.е. в некоторых вариантах осуществления химерное антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну CDR, выбранную из CDR1 тяжелой цепи, представленной в настоящем описании, CDR2 тяжелой цепи, представленной в настоящем описании,

нии, CDR3 тяжелой цепи, представленной в настоящем описании, CDR1 легкой цепи, представленной в настоящем описании, CDR2 легкой цепи, представленной в настоящем описании, и CDR3 легкой цепи, представленной в настоящем описании. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления химерное антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну мутантную CDR на основе CDR, представленной в настоящем описании, где мутантная CDR содержит 1, 2, 3 или 4 замены аминокислот относительно CDR, представленной в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько замен аминокислот являются консервативными аминокислотными заменами. Специалист в этой области может выбирать одну или несколько подходящих консервативных аминокислотных замен в случае конкретной последовательности CDR, где не прогнозируют, что подходящие консервативные аминокислотные замены будут значительно изменять связывающие свойства антитела, содержащего мутантную CDR.

Примеры химерных антител против CSF1R также включают химерные антитела, конкурирующие за связывание с CSF1R с антителом, представленным в настоящем описании. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к химерному антителу против CSF1R, конкурирующему за связывание с CSF1R с антителом, выбранным из Fab 0301, 0302 и 0311; и бивалентными (т.е. содержащими две тяжелые цепи и две легкие цепи) версиями этих Fab.

Примеры константных областей химерного антитела.

В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, представленное в настоящем описании, содержит одну или несколько константных областей человека. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи человека принадлежит к изотипу, выбранному из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления константная область легкой цепи человека принадлежит к изотипу, выбранному из κ и λ . В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, представленное в настоящем описании, содержит константную область IgG человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, представленное в настоящем описании, содержит константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых таких вариантах осуществления химерное антитело, представленное в настоящем описании, содержит мутацию S241P в константной области IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, представленное в настоящем описании, содержит константную область IgG4 человека и легкую κ -цепь человека.

Как указано выше, то, является ли желательной эффекторная функция или нет, может зависеть от конкретного способа лечения, предусматриваемого для антитела. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, если эффекторная функция является желательной, выбирают химерное антитело против CSF1R, содержащее константную область тяжелой цепи IgG1 человека или константную область тяжелой цепи IgG3 человека. В некоторых вариантах осуществления, если эффекторная функция не является желательной, выбирают химерное антитело против CSF1R, содержащее константную область тяжелой цепи IgG4 или IgG2 человека.

Примеры антител человека.

Антитела человека можно получать любым подходящим способом.

Неограничивающие примеры способов включают получение антител человека в трансгенных мышах, содержащих локусы иммуноглобулинов человека. См., например, Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 2551-55 (1993); Jakobovits et al., Nature 362: 255-8 (1993); Lonberg et al., Nature 368: 856-9 (1994); и патенты США №№ 5545807; 6713610; 6673986; 6162963; 5545807; 6300129; 6255458; 5877397; 5874299 и 5545806.

Неограничивающие примеры способов также включают получение антител человека с использованием библиотек фагового дисплея. См., например, Hoogenboom et al., J. Mol. Biol. 227: 381-8 (1992); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-97 (1991); и публикация PCT № WO 99/10494.

В некоторых вариантах осуществления антитело человека против CSF1R связывается с полипептидом, имеющим последовательность SEQ ID NO: 1. Примеры антител человека против CSF1R также включают антитела, конкурирующие за связывание с CSF1R с антителом, представленным в настоящем описании. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к антителу человека против CSF1R, конкурирующему за связывание с CSF1R с антителом, выбранным из Fab 0301, 0302 и 0311, и бивалентными (т.е. имеющими две тяжелые цепи и две легкие цепи) версиями этих Fab.

В некоторых вариантах осуществления антитело человека против CSF1R содержит одну или несколько константных областей человека. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи человека принадлежит к изотипу, выбранному из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления константная область легкой цепи человека принадлежит к изотипу, выбранному из κ и λ .

В некоторых вариантах осуществления антитело человека, представленное в настоящем описании, содержит константную область IgG человека. В некоторых вариантах осуществления антитело человека, представленное в настоящем описании, содержит константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых таких вариантах осуществления антитело человека, представленное в настоящем описании, содержит мутацию S241P в константной области IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело человека, представленное в настоящем описании, содержит константную область IgG4 челове-

ка и легкую к-цепь человека.

В некоторых вариантах осуществления, если эффекторная функция является желательной, выбирают антитело человека против CSF1R, содержащее константную область тяжелой цепи IgG1 человека или константную область тяжелой цепи IgG3 человека. В некоторых вариантах осуществления, если эффекторная функция не является желательной, выбирают антитело человека против CSF1R, содержащее константную область тяжелой цепи IgG4 или IgG2 человека.

Дополнительные примеры антител против CSF1R.

Неограничивающие примеры антител против CSF1R также включают мышинные, гуманизированные, человеческие, химерные и сконструированные антитела, содержащие, например, одну или несколько последовательностей CDR, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит переменную область тяжелой цепи, представленную в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит переменную область легкой цепи, представленную в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит переменную область тяжелой цепи, представленную в настоящем описании, и переменную область легкой цепи, представленную в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленные в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленные в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленные в настоящем описании, и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленные в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит переменную область тяжелой цепи антитела, выбранного из Fab 0301, 0302 и 0311. Неограничивающие примеры антитела против CSF1R также включают антитела, содержащие переменную область тяжелой цепи антитела, выбранного из гуманизированных антител huAb1-huAb16. Неограничивающие примеры антител против CSF1R включают антитела, содержащие переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит переменную область легкой цепи антитела, выбранного из Fab 0301, 0302 и 0311. Неограничивающие примеры антител против CSF1R также включают антитела, содержащие переменную область легкой цепи антитела, выбранного из гуманизированных антител huAb1-huAb16. Неограничивающие примеры антител против CSF1R включают антитела, содержащие переменную область легкой цепи, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи антитела, выбранного из Fab 0301, 0302 и 0311. Неограничивающие примеры антител против CSF1R также включают антитела, содержащие переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи антитела, выбранного из гуманизированных антител huAb1-huAb16. Неограничивающие примеры антител против CSF1R включают антитела, содержащие следующие пары переменных областей тяжелой и легкой цепи: SEQ ID NO: 9 и 10; SEQ ID NO: 11 и 12; SEQ ID NO: 13 и 14; SEQ ID NO: 39 и 40; SEQ ID NO: 41 и 42; SEQ ID NO: 43 и 44; SEQ ID NO: 45 и 46; SEQ ID NO: 47 и 48; SEQ ID NO: 49 и 50 и SEQ ID NO: 51 и 52. Неограничивающие примеры антител против CSF1R также включают антитела, содержащие следующие пары тяжелой и легкой цепи: SEQ ID NO: 33 и 34; SEQ ID NO: 35 и 36 и SEQ ID NO: 37 и 38.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи антитела, выбранного из Fab 0301, 0302 и 0311. Неограничивающие примеры антител против CSF1R включают антитела, содержащие наборы CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, выбранные из SEQ ID NO: 15, 16 и 17; SEQ ID NO: 21, 22 и 23 и SEQ ID NO: 27, 28 и 29.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи антитела, выбранного из Fab 0301, 0302 и 0311. Неограничивающие примеры антител против CSF1R включают антитела, содержащие наборы CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, выбранные из SEQ ID NO: 18, 19 и 20; SEQ ID NO: 24, 25 и 26 и SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи антитела, выбранного из Fab 0301, 0302 и 0311.

Неограничивающие примеры антител против CSF1R включают антитела, содержащие наборы CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных выше в табл. 1. Дополнительные примеры антител.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность переменной области, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, где антитело связывается с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит

легкую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52, где антитело связывается с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45; и легкую цепь, содержащую последовательность вариабельной области, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52; где антитело связывается с CSF1R.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну из CDR, представленных в настоящем описании. Т.е. в некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну CDR, выбранную из CDR1 тяжелой цепи, представленной в настоящем описании, CDR2 тяжелой цепи, представленной в настоящем описании, CDR3 тяжелой цепи, представленной в настоящем описании, CDR1 легкой цепи, представленной в настоящем описании, CDR2 легкой цепи, представленной в настоящем описании, и CDR3 легкой цепи, представленной в настоящем описании. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит по меньшей мере одну мутантную CDR на основе CDR, представленной в настоящем описании, где мутантная CDR содержит 1, 2, 3 или 4 замены аминокислот относительно CDR, представленной в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько замен аминокислот являются консервативными аминокислотными заменами. Специалист в этой области может выбирать одну или несколько подходящих консервативных аминокислотных замен для конкретной последовательности CDR, где не прогнозируют, что подходящие консервативные аминокислотные замены будут значительно изменять связывающие свойства антитела, содержащего мутантную CDR.

Примеры антител против CSF1R также включают антитела, конкурирующие за связывание с CSF1R с антителом, представленным в настоящем описании. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к антителу против CSF1R, конкурирующему за связывание с CSF1R с антителом, выбранным из Fab 0301, 0302 и 0311, и бивалентными (т.е. имеющими две тяжелые цепи и две легкие цепи) версиями этих Fab.

Примеры константных областей антитела.

В некоторых вариантах осуществления антитело, представленное в настоящем описании, содержит одну или несколько константных областей человека. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи человека принадлежит к изотипу, выбранному из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления константная область легкой цепи человека принадлежит к изотипу, выбранному из κ и λ . В некоторых вариантах осуществления антитело, представленное в настоящем описании, содержит константную область IgG человека. В некоторых вариантах осуществления антитело, представленное в настоящем описании, содержит константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых таких вариантах осуществления антитело, представленное в настоящем описании, содержит мутацию S241P в константной области IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело, представленное в настоящем описании, содержит константную область IgG4 человека и легкую κ -цепь человека.

Как указано выше, то, является ли эффекторная функция желательной или нет, может зависеть от конкретного способа лечения, предусмотренного для антитела. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, если эффекторная функция является желательной, выбирают антитело против CSF1R, содержащее константную область тяжелой цепи IgG1 человека или константную область тяжелой цепи IgG3 человека. В некоторых вариантах осуществления, если эффекторная функция не является желательной, выбирают антитело против CSF1R, содержащее константную область тяжелой цепи IgG4 или IgG2 человека.

Примеры вариабельных областей тяжелой цепи антитела против CSF1R.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к вариабельным областям тяжелой цепи антитела против CSF1R. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела против CSF1R является вариабельной областью мыши, вариабельной областью человека или гуманизированной вариабельной областью.

Вариабельная область тяжелой цепи антитела против CSF1R содержит CDR1, FR2, CDR2, FR3 и CDR3 тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела против CSF1R дополнительно содержит FR1 и/или FR4 тяжелой цепи. Неограничивающие примеры вариабельных областей тяжелой цепи включают вариабельные области тяжелой цепи, имеющие аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела против CSF1R содержит CDR1, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 15, 21 и 27.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела против CSF1R содержит CDR2, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 16, 22 и 28.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи антитела против CSF1R содержит CDR3, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 17, 23 и 29.

Неограничивающие примеры вариабельных областей тяжелой цепи включают вариабельные области тяжелой цепи, содержащие наборы CDR1, CDR2 и CDR3, выбранные из: SEQ ID NO: 15, 16 и 17; SEQ ID NO: 21, 22 и 23 и SEQ ID NO: 27, 28 и 29.

В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела против CSF1R содержит последовательность вариабельной области, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, где тяжелая цепь вместе с легкой цепью способна образовывать антитело, связывающееся с CSF1R.

В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела против CSF1R содержит по меньшей мере одну из CDR, представленных в настоящем описании. Т.е. в некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела против CSF1R содержит по меньшей мере одну CDR, выбранную из CDR1 тяжелой цепи, представленной в настоящем описании, CDR2 тяжелой цепи, представленной в настоящем описании, и CDR3 тяжелой цепи, представленной в настоящем описании. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела против CSF1R содержит по меньшей мере одну мутантную CDR на основе CDR, представленной в настоящем описании, где мутантная CDR содержит 1, 2, 3 или 4 замены аминокислот относительно CDR, представленной в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько замен аминокислот являются консервативными аминокислотными заменами. Специалист в этой области может выбирать одну или несколько подходящих консервативных аминокислотных замен для конкретной последовательности CDR, где не прогнозируют, что подходящие консервативные аминокислотные замены будут значительно изменять связывающие свойства тяжелой цепи, содержащей мутантную CDR.

В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь содержит константную область тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь содержит константную область тяжелой цепи человека. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи человека принадлежит к изотипу, выбранному из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи человека является константной областью IgG. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь содержит константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых таких вариантах осуществления константная область тяжелой цепи IgG4 человека содержит мутацию S241P.

В некоторых вариантах осуществления, если эффекторная функция является желательной, тяжелая цепь содержит константную область тяжелой цепи IgG1 или IgG3 человека. В некоторых вариантах осуществления, если эффекторная функция является менее желательной, тяжелая цепь содержит константную область тяжелой цепи IgG4 или IgG2 человека.

Примеры вариабельных областей легкой цепи антитела против CSF1R.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к вариабельным областям легкой цепи антитела против CSF1R. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи антитела против CSF1R является вариабельной областью мыши, вариабельной областью человека или гуманизированной вариабельной областью.

Вариабельная область легкой цепи антитела против CSF1R содержит CDR1, FR2, CDR2, FR3 и CDR3 легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи антитела против CSF1R дополнительно содержит FR1 и/или FR4 легкой цепи. Неограничивающие примеры вариабельных областей легкой цепи включают вариабельные области легкой цепи, имеющие аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи антитела против CSF1R содержит CDR1, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 18, 24 и 30.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи антитела против CSF1R содержит CDR2, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 19, 25 и 31.

В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи антитела против CSF1R содержит CDR3, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 20, 26 и 32.

Неограничивающие примеры вариабельных областей легкой цепи включают вариабельные области легкой цепи, содержащие наборы CDR1, CDR2 и CDR3, выбранные из SEQ ID NO: 18, 19 и 20; SEQ ID NO: 24, 25 и 26 и SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

В некоторых вариантах осуществления легкая цепь антитела против CSF1R содержит последовательность вариабельной области, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%

идентичной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52, где легкая цепь вместе с тяжелой цепью способна образовывать антитело, связывающееся с CSF1R.

В некоторых вариантах осуществления легкая цепь антитела против CSF1R содержит по меньшей мере одну из CDR, представленных в настоящем описании. Т.е. в некоторых вариантах осуществления легкая цепь антитела против CSF1R содержит по меньшей мере одну CDR, выбранную из CDR1 легкой цепи, представленной в настоящем описании, CDR2 легкой цепи, представленной в настоящем описании, и CDR3 легкой цепи, представленной в настоящем описании. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления легкая цепь антитела против CSF1R содержит по меньшей мере одну мутантную CDR на основе CDR, представленной в настоящем описании, где мутантная CDR содержит 1, 2, 3 или 4 замен аминокислот относительно CDR, представленной в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько замен аминокислот являются консервативными аминокислотными заменами. Специалист в этой области может выбирать одну или несколько подходящих консервативных аминокислотных замен для конкретной последовательности CDR, где не прогнозируют, что подходящие консервативные аминокислотные замены будут значительно изменять связывающие свойства легкой цепи, содержащей мутантную CDR.

В некоторых вариантах осуществления легкая цепь содержит константную область легкой цепи человека. В некоторых вариантах осуществления константная область легкой цепи человека выбрана из константной области легкой κ - и λ -цепи человека.

Примеры дополнительных CSF1R-связывающих молекул.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к дополнительным молекулам, связывающимся с CSF1R. Такие молекулы включают в качестве неограничивающих примеров неканонические каркасы, такие как антикарины, аднектины, анкириновые повторы и т.д. См., например, Hosse et al., *Prot. Sci.* 15:14 (2006); Fiedler, M. and Skerra, A., "Non-Antibody Scaffolds," pp. 467-499 в *Handbook of Therapeutic Antibodies*, Dubel, S., ed., Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2007.

Примеры свойств антител против CSF1R.

В некоторых вариантах осуществления антитело, имеющее описываемую выше структуру, связывается с CSF1R с аффинностью связывания (K_D) менее 1 нМ, блокирует связывание CSF1 и/или ИЛ-34 с CSF1R и ингибирует фосфорилирование CSF1R, индуцируемое CSF1 и/или ИЛ-34.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R связывается с внеклеточным доменом CSF1R (CSF1R-ECD). В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R имеет аффинность связывания (K_D) с CSF1R менее 1 нМ, менее 0,5 нМ, менее 0,1 нМ или менее 0,05 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R имеет K_D от 0,01 до 1 нМ, от 0,01 до 0,5 нМ, от 0,01 до 0,1 нМ, от 0,01 до 0,05 нМ или от 0,02 до 0,05 нМ.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R блокирует связывание лиганда с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R блокирует связывание CSF1 с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R блокирует связывание ИЛ-34 с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R блокирует связывание CSF1 и ИЛ-34 с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело, блокирующее связывание лиганда, связывается с внеклеточным доменом CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело блокирует связывание лиганда с CSF1R, если оно снижает степень детектируемого связывания лиганда с CSF1R по меньшей мере на 50% при использовании анализа, описываемого, например, в примере 7 патента США № 8206715 B2, включенного в настоящее описание в качестве ссылки для любой цели. В некоторых вариантах осуществления антитело снижает степень детектируемого связывания лиганда с CSF1R по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80% или по меньшей мере на 90%. В некоторых таких вариантах осуществления указано, что антитело блокирует связывание лиганда по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% и т.д.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R ингибирует индуцируемое лигандом фосфорилирование CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R ингибирует индуцируемое CSF1 фосфорилирование CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R ингибирует индуцируемое ИЛ-34 фосфорилирование CSF1R. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R ингибирует индуцируемое CSF1 и индуцируемое ИЛ-34 фосфорилирование CSF1R. В некоторых вариантах осуществления считают, что антитело "ингибирует индуцируемое лигандом фосфорилирование CSF1R", если оно снижает степень детектируемого, индуцируемого лигандом фосфорилирования CSF1R по меньшей мере на 50% при использовании анализа, описываемого, например, в примере 6 патента США № 8206715 B2, включенного в настоящее описание в качестве ссылки для любой цели. В некоторых вариантах осуществления антитело снижает степень детектируемого, индуцируемого лигандом фосфорилирования CSF1R по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80% или по меньшей мере на 90%. В некоторых таких вариантах осуществления указано, что антитело ингибирует индуцируемое лигандом фосфорилирование CSF1R по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% и т.д.

В некоторых вариантах осуществления антитело ингибирует ответы моноцитов с пролиферацией и/или выживаемостью в присутствии CSF1 и/или ИЛ-34. В некоторых вариантах осуществления считают,

что антитело "ингибирует ответы моноцитов с пролиферацией и/или выживаемостью", если оно снижает степень ответов моноцитов с пролиферацией и/или выживаемостью в присутствии CSF1 и/или ИЛ-34 по меньшей мере на 50% при использовании анализа, описываемого, например, в примере 10 патента США № 8206715 В2, включенного в настоящее описание в качестве ссылки для любой цели. В некоторых вариантах осуществления антитело снижает степень ответов моноцитов с пролиферацией и/или выживаемостью в присутствии CSF1 и/или ИЛ-34 по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80% или по меньшей мере на 90%. В некоторых таких вариантах осуществления указано, что антитело ингибирует ответы моноцитов с пролиферацией и/или выживаемостью по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% и т.д.

Примеры ингибиторов PD-1/PD-L1.

Примеры ингибиторов PD-1/PD-L1 включают антитела, ингибирующие PD-1, такие как антитела против PD-1 и антитела против PD-L1. Такие антитела могут являться гуманизированными антителами, химерными антителами, антителами мыши, антителами человека и антителами, содержащими CDR тяжелой цепи и/или легкой цепи, представленные в настоящем описании. Ингибиторы PD-1/PD-L1 также включают слитые белки, блокирующие связывание PD-1 с PD-L1, такие как AMP-22. В этой области известны различные антитела против PD-1.

Антитела против PD-1.

PD-1 является ключевым рецептором иммунных контрольных точек, экспрессируемым активированными Т- и В-клетками и опосредующим иммуносупрессию. PD-1 является членом семейства CD28 рецепторов, включающего CD28, CTLA-4, ICOS, PD-1 и BTLA. Идентифицировано два гликопротеиновых лиганда поверхности клетки для PD-1, лиганд-1 белка программируемой гибели клеток (PD-L1) и лиганд-2 белка программируемой гибели клеток (PD-L2), экспрессирующихся на антигенпрезентирующих клетках, а также многих злокачественных новообразованиях человека, и показано, что они отрицательно регулируют активацию Т-клеток и секрецию цитокинов после связывания с PD-1. Ингибирование взаимодействия PD-1/PD-L1 опосредует мощную противоопухолевую активность в доклинических моделях.

HuMAb, специфически связывающиеся с PD-1 с высокой аффинностью, описывают в патенте США № 8008449. Другие mAb против PD-1 описывают, например, в патентах США №№ 6808710, 7488802, 8168757 и 8354509 и публикации РСТ № WO 2012/145493. Показано, что каждое из HuMAb против PD-1, описываемых в патенте США № 8008449, демонстрирует одну или несколько из следующих характеристик: (а) связывается с PD-1 человека с K_D 1×10^{-7} М или менее, как определяют посредством поверхностного плазмонного резонанса с использованием биосенсорной системы Biacore; (b), по существу, не связывается с CD28, CTLA-4 или ICOS человека; (c) повышает Т-клеточную пролиферацию в анализе реакции смешанной культуры лимфоцитов (MLR); (d) повышает продукцию интерферона- γ в анализе MLR; (e) повышает секрецию ИЛ-2 в анализе MLR; (f) связывается с PD-1 человека и PD-1 яванского макака; (g) ингибирует связывание PD-L1 и/или PD-L2 с PD-1; (h) стимулирует антиген-специфические анамнестические реакции; (i) стимулирует гуморальные ответы и/или (j) ингибирует рост опухолевых клеток *in vivo*. Ab против PD-1, применимые в настоящем изобретении, включают mAb, специфически связывающиеся с PD-1 человека и проявляющие по меньшей мере одну, по меньшей мере две, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре или по меньшей мере пять указанных выше характеристик.

Неограничивающие примеры антител против PD-1 также включают мышиные, гуманизированные, человеческие, химерные и сконструированные антитела, содержащие, например, одну или несколько последовательностей CDR, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит вариабельную область тяжелой цепи, представленную в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит вариабельную область легкой цепи, представленную в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит вариабельную область тяжелой цепи, представленную в настоящем описании, и вариабельную область легкой цепи, представленную в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленные в настоящем описании, например, содержащие SEQ ID NO: 105, 107 и 109. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленные в настоящем описании, например, содержащие SEQ ID NO: 112, 114 и 116. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленные в настоящем описании, например, содержащие SEQ ID NO: 105, 107 и 109, и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленные в настоящем описании, например, содержащие SEQ ID NO: 112, 114 и 116.

В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, содержащие SEQ ID NO: 105, 107 и 109 соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 112, 114 и 116 соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 102. В

некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 100, и переменную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит константную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 101, и/или константную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 103.

Дополнительные примеры антител.

В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность переменной области, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной SEQ ID NO: 100, где антитело связывается с PD-1. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит легкую цепь, содержащую последовательность переменной области, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной SEQ ID NO: 102, где антитело связывается с PD-1. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность переменной области, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной SEQ ID NO: 100; и легкую цепь, содержащую последовательность переменной области, являющуюся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной SEQ ID NO: 102; где антитело связывается с PD-1.

В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит по меньшей мере одну из CDR, представленных в настоящем описании. Т.е. в некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит по меньшей мере одну CDR, выбранную из CDR1 тяжелой цепи, представленной в настоящем описании, CDR2 тяжелой цепи, представленной в настоящем описании, CDR3 тяжелой цепи, представленной в настоящем описании, CDR1 легкой цепи, представленной в настоящем описании, CDR2 легкой цепи, представленной в настоящем описании, и CDR3 легкой цепи, представленной в настоящем описании. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит по меньшей мере одну мутантную CDR на основе CDR, представленной в настоящем описании, где мутантная CDR содержит 1, 2, 3 или 4 замены аминокислот относительно CDR, представленной в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько замен аминокислот являются консервативными аминокислотными заменами. Специалист в этой области может выбирать одну или несколько подходящих консервативных аминокислотных замен для конкретной последовательности CDR, где не прогнозируют, что подходящие консервативные аминокислотные замены будут значительно изменять связывающие свойства антитела, содержащего мутантную CDR.

В одном из вариантов осуществления Ab против PD-1 является ниволумабом. Ниволумаб (также известный как "Opdivo®"; ранее обозначаемый как 5C4, BMS-936558, MDX-1106 или ONO-4538) является полностью человеческим Ab IgG4 (S228P), являющимся ингибитором иммунных контрольных точек PD-1, селективно предотвращающим взаимодействие с лигандами PD-1 (PD-L1 и PD-L2), таким образом, блокирующим отрицательную регуляцию противоопухолевых функций Т-клеток (патент США № 8008449; Wang et al., 2014 Cancer Immunol Res. 2(9) :846-56).

В другом варианте осуществления Ab против PD-1 является пембролизумабом. Пембролизумаб (также известный как "Keytruda®", ламбролизумаб и MK-3475) является гуманизированным моноклональным антителом IgG4 против рецептора PD-1 поверхности клеток человека (белка программируемой гибели клеток-1). Пембролизумаб описывают, например, в патенте США № 8900587; также см. <http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=695789> (последний доступ: 14 декабря 2014 г.). Пембролизумаб одобрен FDA для лечения рецидивирующей или рефрактерной меланомы.

В других вариантах осуществления Ab против PD-1 является MEDI0608 (ранее известный как AMP-514), являющийся моноклональным антителом против рецептора PD-1. MEDI0608 описывают, например, в патенте США № 8609089 B2 или на <http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=756047> (последний доступ: 14 декабря 2014 г.).

Ab против PD-1, применимые в описываемых способах, также включают выделенные Ab, специфически связывающиеся с PD-1 человека и перекрестно конкурирующие за связывание с PD-1 человека с ниволумабом (см., например, патент США № 8008449; WO 2013/173223). Способность Ab перекрестно конкурировать за связывание с антигеном свидетельствует о том, что эти Ab связываются с одной и той же областью эпитопа антигена и стерически препятствуют связыванию других перекрестно конкурирующих Ab с этой конкретной областью эпитопа. Ожидают, что эти перекрестно конкурирующие Ab будут обладать функциональными свойствами, очень схожими с таковыми у ниволумаба в силу их связывания с той же областью эпитопа PD-1. Перекрестно конкурирующие Ab легко можно идентифициро-

вать по их способности перекрестно конкурировать с ниволумабом в стандартных анализах связывания PD-1, таких как анализ Biacore, анализы ELISA или проточная цитометрия (см., например, WO 2013/173223).

В определенных вариантах осуществления Ab, перекрестно конкурирующие за связывание с PD-1 человека или связывающиеся с той же областью эпитопа PD-1 человека, что и ниволумаб, являются mAb. В случае введения людям эти перекрестно конкурирующие Ab могут являться химерными Ab, или гуманизированными или человеческими Ab. Такие химерные, гуманизированные или человеческие mAb можно получать и выделять способами, хорошо известными в этой области.

Ab против PD-1, применимые в способах по настоящему изобретению, также включают антиген-связывающие части указанных выше Ab. Убедительно продемонстрировано, что антигенсвязывающую функцию Ab могут осуществлять фрагменты полноразмерного Ab. Примеры связывающих фрагментов, включенных в термин "антигенсвязывающая часть" Ab, включают (i) Fab-фрагмент, моновалентный фрагмент, состоящий из доменов V_L , V_H , C_L и C_H1 ; (ii) F(ab')₂-фрагмент, бивалентный фрагмент, содержащий два Fab-фрагмента, соединенных дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) Fd-фрагмент, состоящий из доменов V_H и C_H1 ; и (iv) Fv-фрагмент, состоящий из доменов V_L и V_H одного плеча Ab.

Неограничивающим примером слитого белка, являющегося ингибитором PD-1/PD-L1, является AMP-224 (Amplimmune, GlaxoSmithKline).

Неограничивающим примером пептида, являющегося ингибитором PD-1/PD-L1, является AUR-012.

Примеры конъюгатов антител.

В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгируют с меткой и/или цитотоксическим средством. В рамках изобретения метка является остатком, облегчающим детекцию антитела и/или облегчающим детекцию молекулы, с которой связывается антитело. Неограничивающие примеры меток включают радиоактивные изотопы, флуоресцентные группы, ферментативные группы, хемилюминесцентные группы, биотин, эпитопные метки, металлсвязывающие метки и т.д. Специалист в этой области может выбирать подходящую метку в соответствии с предполагаемым применением.

В рамках изобретения цитотоксическое средство является остатком, снижающим пролиферативную способность одной или нескольких клеток. Клетка имеет сниженную пролиферативную способность, если клетка становится менее способной к пролиферации, например, потому что клетка подвергается апоптозу или иным образом гибнет, клетка не может проходить через клеточный цикл и/или не может делиться, клетка дифференцируется и т.д. Неограничивающие примеры цитотоксических средств включают радиоактивные изотопы, токсины и химиотерапевтические средства. Специалист в этой области может выбирать подходящее цитотоксическое средство в соответствии с предполагаемым применением.

В некоторых вариантах осуществления метку и/или цитотоксическое средство конъюгируют с антителом химическими способами *in vitro*. Неограничивающие примеры химических способов конъюгации известны в этой области и включают службы, способы и/или реагенты, коммерчески доступные, например, в Thermo Scientific Life Science Research Products (ранее известном как Pierce; Rockford, IL), Prozyme (Hayward, CA), SACRI Antibody Services (Calgary, Canada), AbD Serotec (Raleigh, NC) и т.д. В некоторых вариантах осуществления, если метка и/или цитотоксическое средство является полипептидом, метку и/или цитотоксическое средство можно экспрессировать с того же экспрессирующего вектора, что и по меньшей мере одна цепь антитела, для получения полипептида, содержащего метку и/или цитотоксическое средство, слитые с цепью антитела. Специалист в этой области может выбирать подходящий способ конъюгации метки и/или цитотоксического средства с антителом в соответствии с предполагаемым применением.

Примеры лидерных последовательностей.

Для экспрессии и секреции некоторых секретируемых белков в больших количествах желательной может являться лидерная последовательность из гетерологичного белка. В некоторых вариантах осуществления лидерная последовательность выбрана из SEQ ID NO: 3 и 4, являющихся лидерными последовательностями легкой цепи и тяжелой цепи соответственно. В некоторых вариантах осуществления использование гетерологичных лидерных последовательностей может являться предпочтительным тем, что получаемый зрелый полипептид может оставаться неизменным, т.к. лидерная последовательность удаляется в ER при секреции. Добавление гетерологичной лидерной последовательности может потребоваться для экспрессии и секреции некоторых белков.

Конкретные примеры лидерных последовательностей описывают, например, в доступной в сети интернет базе данных о лидерных последовательностях, поддерживаемой Department of Biochemistry, National University of Singapore. См. Choo et al., BMC Bioinformatics, 6: 249 (2005); и публикация PCT № WO 2006/081430.

Молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие антитела.

Настоящее изобретение относится к молекулам нуклеиновой кислоты, содержащим полинуклеотиды, кодирующие одну или несколько цепей антитела. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь или легкую цепь антитела. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотид, коди-

рующей тяжелую цепь, и полинуклеотид, кодирующий легкую цепь антитела. В некоторых вариантах осуществления первая молекула нуклеиновой кислоты содержит первый полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь, и вторая молекула нуклеиновой кислоты содержит второй полинуклеотид, кодирующий легкую цепь.

В некоторых таких вариантах осуществления тяжелая цепь и легкая цепь экспрессируются с одной молекулы нуклеиновой кислоты или с двух отдельных молекул нуклеиновой кислоты в виде двух отдельных полипептидов. В некоторых вариантах осуществления, таких как случаи, когда антитело является scFv, один полинуклеотид кодирует один полипептид, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь, соединенные вместе.

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь или легкую цепь антитела, содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность, которая при трансляции находится на N-конце тяжелой цепи или легкой цепи. Как указано выше, лидерная последовательность может являться нативной лидерной последовательностью тяжелой или легкой цепи или может являться другой гетерологичной лидерной последовательностью.

Молекулы нуклеиновой кислоты можно конструировать способами рекомбинантной ДНК, общепринятыми в этой области. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты является экспрессирующим вектором, подходящим для экспрессии в выбранной клетке-хозяине.

Экспрессия и продукция антитела.

Векторы.

Настоящее изобретение относится к векторам, содержащим полинуклеотиды, кодирующие тяжелые цепи и/или легкие цепи антитела. Настоящее изобретение также относится к векторам, содержащим полинуклеотиды, кодирующие тяжелые цепи и/или легкие цепи антитела. Такие векторы включают в качестве неограничивающих примеров ДНК-векторы, фаговые векторы, вирусные векторы, ретровирусные векторы и т.д. В некоторых вариантах осуществления вектор содержит первую полинуклеотидную последовательность, кодирующую тяжелую цепь и вторую полинуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь и легкая цепь экспрессируются с вектора в виде двух отдельных полипептидов. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь и легкая цепь экспрессируются как часть одного полипептида, например, если антитело является scFv.

В некоторых вариантах осуществления первый вектор содержит полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь, и второй вектор содержит полинуклеотид, кодирующий легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления первый вектор и второй вектор трансфицируют в клетки-хозяева в схожих количествах (таких как схожие молярные количества или схожие массовые количества). В некоторых вариантах осуществления молярное или массовое соотношение от 5:1 до 1:5 первого вектора и второго вектора трансфицируют в клетки-хозяева. В некоторых вариантах осуществления используют массовое соотношение от 1:1 до 1:5 в случае вектора, кодирующего тяжелую цепь, и вектора, кодирующего легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления используют массовое соотношение 1:2 в случае вектора, кодирующего тяжелую цепь, и вектора, кодирующего легкую цепь.

В некоторых вариантах осуществления выбирают вектор, оптимизированный для экспрессии полипептидов в клетках CHO, или полученных из CHO клетках, или в клетках NSO. Примеры таких векторов описывают, например, в Running Deer et al., *Biotechnol. Prog.* 20:880-889 (2004).

В некоторых вариантах осуществления вектор выбирают для экспрессии *in vivo* тяжелых цепей антитела и/или легких цепей антитела в животных, включая людей. В некоторых таких вариантах осуществления экспрессию полипептида осуществляют под контролем промотора, функционирующего тканеспецифическим образом.

Например, печеночно-специфические промоторы описывают, например, в публикации РСТ № WO 2006/076288.

Клетки-хозяева.

В различных вариантах осуществления тяжелые цепи и/или легкие цепи антитела можно экспрессировать в прокариотических клетках, таких как бактериальные клетки; или в эукариотических клетках, таких как клетки грибов (таких как дрожжи), растительные клетки, клетки насекомых и клетки млекопитающих. Такую экспрессию можно осуществлять, например, известными в этой области способами. Неограничивающие примеры эукариотических клеток, которые можно использовать для экспрессии полипептидов включают клетки COS, включая клетки COS 7; клетки 293, включая клетки 293-6E; клетки CHO, включая клетки CHO-S и DG44; клетки PER.C6® (Crucell) и клетки NSO. В некоторых вариантах осуществления тяжелые цепи и/или легкие цепи антитела можно экспрессировать в дрожжах. См., например, патентную публикацию США № US 2006/0270045 A1. В некоторых вариантах осуществления конкретную эукариотическую клетку-хозяин выбирают с учетом ее способности осуществлять желаемые посттрансляционные модификации тяжелых цепей и/или легких цепей антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления клетки CHO продуцируют полипептиды, имеющие более высокий уровень сialiрования, чем тот же полипептид, продуцируемый в клетках 293.

Встраивание одной или нескольких нуклеиновых кислот в желаемую клетку-хозяин можно осуществ-

ствлять любым способом, включая в качестве неограничивающих примеров трансфекцию с помощью фосфата кальция, опосредованную DEAE-декстраном трансфекцию, опосредованную катионными липидами трансфекцию, электропорацию, трансдукцию, инфицирование и т.д.

Неограничивающие примеры способов описывают, например, в Sambrook et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001). Нуклеиновыми кислотами можно транзитивно или стабильно трансфицировать желаемые клетки-хозяева любым подходящим способом.

В некоторых вариантах осуществления один или несколько полипептиды можно получать *in vivo* в животном, сконструированном или трансфицированном с использованием одной или нескольких молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих полипептиды, любым подходящим способом.

Очистка антител.

Антитела можно очищать любым подходящим способом. Такие способы включают в качестве неограничивающих примеров использование аффинных матриц или хроматографии гидрофобных взаимодействий. Подходящие аффинные лиганды включают антигены и лиганды, связывающийся с константными областями антитела. Например, можно использовать аффинную колонку с протеином А, протеином G, протеином А/G или антителом для связывания константной области и очистки антитела. Хроматографии гидрофобных взаимодействий, например, на бутиловой или фениловой колонке, также может подходить для очистки некоторых полипептидов. Многие способы очистки полипептидов известны в этой области.

Бесклеточное получение антител.

В некоторых вариантах осуществления антитело получают в бесклеточной системе. Неограничивающие примеры бесклеточных систем описывают, например, в Sitaraman et al., *Methods Mol. Biol.* 498: 229-44 (2009); Spirin, *Trends Biotechnol.* 22: 538-45 (2004); Endo et al., *Biotechnol. Adv.* 21: 695-713 (2003).

Терапевтические композиции и способы.

Способы лечения злокачественного новообразования.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам лечения злокачественного новообразования, включающим введение эффективного количества антитела против CSF1R и эффективного количества ингибитора PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R и ингибитор PD-1/PD-L1 вводят одновременно. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R и ингибитор PD-1/PD-L1 вводят последовательно. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одну, по меньшей мере две, по меньшей мере три дозы, по меньшей мере пять доз или по меньшей мере десять доз антитела против CSF1R вводят перед введением ингибитора PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одну, по меньшей мере две, по меньшей мере три дозы, по меньшей мере пять доз или по меньшей мере десять доз ингибитора PD-1/PD-L1 вводят перед введением антитела против CSF1R. В некоторых вариантах осуществления последнюю дозу ингибитора PD-1/PD-L1 вводят по меньшей мере за один, два, три, пять или десять дней или одну, две, три, пять, двенадцать или двадцать четыре недели до первой дозы ингибитора CSF1R. В некотором другом варианте осуществления последнюю дозу ингибитора CSF1R вводят по меньшей мере за один, два, три, пять или десять дней или одну, две, три, пять, двенадцать или двадцать четыре недели до первой дозы ингибитора PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления индивидууму вводили или вводят ингибитор PD-1/PD-L1 и добавляют антитело против CSF1R в схему лечения.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу выбора пациента для комбинированного лечения антителом против CSF1R и ингибитором PD-1/PD-L1, включающему определение уровней TAM и/или CD8+ Т-клеток у пациента. В некоторых вариантах осуществления, если уровни TAM пациента являются высокими, пациента выбирают для комбинированного лечения. В некоторых вариантах осуществления, если уровни TAM и CD8+ Т-клеток пациента являются высокими, пациента выбирают для комбинированного лечения. Уровень TAM или CD8+ Т-клеток считают "высоким", если он является по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 75% или по меньшей мере на 100% более высоким, чем уровень у индивидуума, не имеющего злокачественное новообразование. В некоторых вариантах осуществления уровень TAM или CD8+ Т-клеток считают "высоким", если он превышает средний уровень, обнаруживаемый у индивидуумов со злокачественным новообразованием. В некоторых вариантах осуществления, если уровни TAM пациента являются высокими, и уровни CD8+ Т-клеток являются низкими, пациента выбирают для комбинированного лечения антителом против CSF1R и ингибитором PD-1/PD-L1. Уровень CD8+ Т-клеток считают "низким", если он равен или уступает среднему уровню, обнаруживаемому у индивидуумов со злокачественным новообразованием. В некотором варианте осуществления уровень CD8+ Т-клеток считают "низким", если он является по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 75% или по меньшей мере на 100% более низким, чем уровень у индивидуума, не имеющего злокачественное новообразование. В некоторых вариантах осуществления определяют экспрессию CSF1R на TAM пациента. В некоторых вариантах осуществления, если TAM пациента экспрессируют CSF1R, пациента выбирают для комбинированного лечения. В некоторых вариантах осуществления, если TAM пациента экспрессируют повышенные уровни CSF1R, пациента выбирают для комби-

нированного лечения. В некоторых вариантах осуществления ТАМ пациента считают экспрессирующими "повышенные" уровни CSF1R, если уровень CSF1R равен или превышает средний уровень CSF1R, обнаруживаемый на ТАМ индивидуумов со злокачественным новообразованием. В некоторых вариантах осуществления, если для экспрессии CSF1R пациента наблюдают высокую корреляцию с уровнем CD8+ Т-клеток, Т-клеток или экспрессии PD-1/PD-L1, пациента выбирают для комбинированного лечения. Корреляцию экспрессии считают "высокой", если она равна или превышает средний уровень, обнаруживаемый у индивидуумов со злокачественным новообразованием.

Уровни ТАМ, экспрессии CSF1R, CD8+ Т-клеток, регуляторных Т-клеток и/или экспрессии PD-1 можно измерять способами, известными в этой области. Неограничивающие примеры способов включают иммуногистохимию (ИНС), активируемую флуоресценцией сортировку клеток (FACS), белковые микрочипы и анализы экспрессии генов, такие как секвенирование РНК, использование генетических чипов и количественную ПЦР. В некоторых вариантах осуществления один или несколько маркеров, выбранных из CSF1R, CD68, CD163, CD8, FoxP3, PD-1 и PD-L1, можно определять посредством ИНС, FACS или анализа экспрессии генов на срезах опухолей или разделенных клетках из срезов опухолей.

В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование выбрано из плоскоклеточного рака, мелкоклеточного рака легких, злокачественного новообразования гипофиза, рака пищевода, астроцитомы, саркомы мягких тканей, немелкоклеточного рака легких, аденокарциномы легких, плоскоклеточной карциномы легких, рака брюшины, печеночноклеточного рака, злокачественного новообразования желудочно-кишечного тракта, рака поджелудочной железы, глиобластомы, рака шейки матки, рака яичников, рака печени, рака мочевого пузыря, гепатомы, рака молочной железы, рака толстого кишечника, колоректального рака, карциномы эндометрия или карциномы матки, карциномы слюнной железы, рака почки, злокачественной опухоли почки, рака печени, рака предстательной железы, рака женских наружных половых органов, рака щитовидной железы, печеночной карциномы, злокачественного новообразования головного мозга, рака эндометрия, рака яичек, холангиокарциномы, карциномы желчного пузыря, рака желудка, меланомы и различных типов рака головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления рак легких является немелкоклеточным раком легких или плоскоклеточной карциномой легких. В некоторых вариантах осуществления лейкоз является острым миелолейкозом или хроническим лимфоцитарным лейкозом. В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы является инвазивной карциномой молочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак яичников является серозной цистаденокарциномой яичника. В некоторых вариантах осуществления рак почки является светлоклеточным раком почки. В некоторых вариантах осуществления рак толстого кишечника является аденокарциномой толстого кишечника. В некоторых вариантах осуществления рак мочевого пузыря является уротелиальным раком мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование выбрано из рака мочевого пузыря, рака шейки матки (такого как плоскоклеточный рак шейки матки), плоскоклеточной карциномы головы и шеи, аденокарциномы почки, немелкоклеточного рака легких, рака эндометрия, аденокарциномы предстательной железы, рака толстого кишечника, рака яичников (такого как серозный эпителиальный рак яичников) и меланомы.

В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R блокирует связывание CSF1 и/или ИЛ-34 с CSF1R и/или ингибирует фосфорилирование CSF1R, индуцируемое CSF1 и/или ИЛ-34. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R блокирует связывание CSF1 и ИЛ-34 с CSF1R и/или ингибирует фосфорилирование CSF1R, индуцируемое CSF1 и/или ИЛ-34. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит CDR или переменные области антитела, выбранного из HuAB1-huAb16 представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R содержит CDR или переменные области HuAB1.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 выбран из слитого белка (такого как AMP-224) и антитела. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 выбран из антитела против PD-1 и антитела против PD-L1. Неограничивающие примеры антител против PD-1 включают антитела, содержащие CDR или переменные области антитела, выбранного из ниволумаба и пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 выбрано из ниволумаба и пембролизумаба. Неограничивающие примеры антител против PD-L1 включают антитела, содержащие CDR или переменные области антитела, выбранного из BMS-936559, MPDL3280A, MEDI4736 и MSB0010718C. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-L1 выбрано из BMS-936559, MPDL3280A, MEDI4736 и MSB0010718C.

В некоторых вариантах осуществления способов, представленных в настоящем описании, индивидуум недостаточно отвечает на ингибитор PD-1/PD-L1. Индивидуум, недостаточно отвечающий на ингибитор PD-1/PD-L1, мог ранее отвечать на ингибитор PD-1/PD-L1, но мог стать менее отвечающим на ингибитор PD-1/PD-L1, или индивидуум мог никогда не отвечать на ингибитор PD-1/PD-L1. Недостаточный ответ на ингибитор PD-1/PD-L1 означает, что аспекты состояния, которые, как ожидают, будут улучшаться после стандартной дозы ингибитора PD-1/PD-L1, не улучшаются, и/или улучшение наступает лишь при введении дозы, превышающей стандартную. В некоторых вариантах осуществления индивидуум, недостаточно отвечающий на ингибитор PD-1/PD-L1, испытывал или испытывает недостаточный ответ на ингибитор PD-1/PD-L1 после введения стандартной дозы в течение по меньшей мере двух

недель, по меньшей мере трех недель, по меньшей мере четырех недель, по меньшей мере шести недель или по меньшей мере двенадцати недель. "Стандартную" дозу определяет специалист в области медицины, и она может зависеть от возраста индивидуума, массы тела, анамнеза, тяжести заболевания, частоты введения и т.д. В некоторых вариантах осуществления индивидуум, недостаточно отвечающий на ингибитор PD-1/PD-L1, испытывал или испытывает недостаточный ответ на антитело против PD-1 и/или антитело против PD-L1. В некоторых вариантах осуществления индивидуум, недостаточно отвечающий на ингибитор PD-1/PD-L1, испытывал или испытывает недостаточный ответ на AMP-224. В некоторых вариантах осуществления индивидуум, недостаточно отвечающий на ингибитор PD-1/PD-L1, испытывал или испытывает недостаточный ответ на ингибитор PD-1/PD-L1, выбранный из ниволумаба и пембролизумаба.

Пути введения и носители.

В различных вариантах осуществления антитела можно вводить *in vivo* различными путями, включая в качестве неограничивающих примеров пероральный, внутриартериальный, парентеральный, интраназальный, внутривенный, внутримышечный, внутрисердечный, внутрижелудочковый, интратрахеальный, буккальный, ректальный, интраперитонеальный, внутрикожный, местный, трансдермальный и интратекальный путь, или имплантацию, или ингаляцию. Композиции по настоящему изобретению можно составлять в препараты в твердой, полутвердой, жидкой или газообразной формах, включая, в качестве неограничивающих примеров, таблетки, капсулы, порошки, гранулы, мази, растворы, суппозитории, клизмы, инъекции, ингалянты и аэрозоли. Молекулой нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело, можно покрывать микрочастицы золота и доставлять их внутрикожно с помощью устройства для бомбардировки микрочастицами или "генетической пушки", как описано в литературе (см., например, Tang et al., *Nature* 356:152-154 (1992)). Подходящий состав и путь введения можно выбирать в соответствии с предполагаемым применением.

В различных вариантах осуществления композиции, содержащие антитела, предоставляют в составах с широким спектром фармацевтически приемлемых носителей (см., например, Gennaro, Remington: *The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus*, 20th ed. (2003); Ansel et al., *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7th ed., Lippencott Williams and Wilkins (2004); Kibbe et al., *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 3rd ed., Pharmaceutical Press (2000)). Также доступны различные фармацевтически приемлемые носители, включающие наполнители, адъюванты и дилуенты. Кроме того, доступны различные фармацевтически приемлемые вспомогательные средства, такие как pH-корректирующие и буферные средства, регуляторы тоничности, стабилизаторы, увлажнители и т.п. Неограничивающие примеры носителей включают физиологический раствор, забуференный физиологический раствор, декстрозу, воду, глицерин, этанол и их комбинации.

В различных вариантах осуществления композиции, содержащие антитела, можно составлять для инъекции, включая подкожное введение, посредством их растворения, суспендирования или эмульгации в водном или неводном растворителе, таком как растительные или другие масла, синтетические алифатические кислые глицириды, сложные эфиры высших алифатических кислот или пропиленгликоль; и при желании, с общепринятыми добавками, такими как солибутилизаторы, изотонические средства, суспендирующие средства, эмульгаторы, стабилизаторы и консерванты. В различных вариантах осуществления композиции можно составлять для ингаляции, например, с использованием находящихся под давлением приемлемых пропеллентов, таких как дихлордифторметан, пропан, азот и т.п. В различных вариантах осуществления композиции также можно составлять в микрокапсулах с замедленным высвобождением, таких как микрокапсулы с биodeградирующими или небиodeградирующими полимерами.

Неограничивающий пример биodeградирующего состава включает сополимер молочной и гликолевой кислот. Неограничивающий пример небиodeградирующего состава включает сложный эфир полиглицерина и жирных кислот. Конкретные способы получения таких составов описывают, например, в EP 1125584 A1.

Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим упаковкам и наборам, содержащим один или несколько контейнеров, каждый из которых содержит одну или несколько доз антитела или комбинации антител. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к единице дозирования, где единица дозирования содержит заранее определенное количество композиции, содержащей антитело или комбинацию антител с одним или несколькими дополнительными средствами или без них. В некоторых вариантах осуществления такую единицу дозирования поставляют, например, в одноразовом заранее наполненном шприце для инъекции или в виде набора. В различных вариантах осуществления композиция, содержащаяся в единице дозирования, может содержать физиологический раствор, сахарозу или т.п.; буфер, такой как фосфатный буфер или т.п.; и/или ее можно составлять в стабильном и эффективном диапазоне pH. Альтернативно, в некоторых вариантах осуществления композицию можно предоставлять в виде лиофилизированного порошка, который можно восстанавливать после добавления подходящей жидкости, например, стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит одно или несколько веществ, ингибирующих агрегацию белка, включая в качестве неограничивающих примеров сахарозу и аргинин. В некоторых вариантах осуществления композиция по изобретению содержит гепарин и/или протеогликан.

Фармацевтические композиции вводят в количестве, эффективном для лечения или профилактики конкретного показания. Терапевтически эффективное количество, как правило, зависит от массы тела индивидуума, подвергаемого лечению, его состояния здоровья, степени состояния, подвергаемого лечению, или возраста индивидуума, подвергаемого лечению. В основном, антитела можно вводить в количестве в диапазоне приблизительно от 10 мкг/кг массы тела до приблизительно 100 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела можно вводить в количестве в диапазоне от приблизительно 50 мкг/кг массы тела до приблизительно 5 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела можно вводить в количестве в диапазоне от приблизительно 100 мкг/кг массы тела до приблизительно 10 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела можно вводить в количестве в диапазоне от приблизительно 100 мкг/кг массы тела до приблизительно 20 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела можно вводить в количестве в диапазоне от приблизительно 0,5 мг/кг массы тела до приблизительно 20 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1, такой как антитело или слитый белок, вводят в дозе от 1 до 4 мг/кг, и антитело против CSF1R вводят в дозе от 0,5 до 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 вводят в дозе 1, 2 или 4 мг/кг, и антитело против CSF1R вводят в дозе от приблизительно от 0,3 до приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 0,5 до приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 0,5 до приблизительно 5 мг/кг или от приблизительно 1 до приблизительно 5 мг/кг массы тела, например приблизительно 0,3, приблизительно 0,5, приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5 или приблизительно 10 мг/кг.

В определенных вариантах осуществления доза ингибитора PD-1/PD-L1 или антитела против CSF1R является фиксированной дозой в фармацевтической композиции. В других вариантах осуществления способ по настоящему изобретению можно использовать с базовой дозой (дозой, вводимой пациенту независимо от массы тела пациента). Например, базовая доза ниволумаба может составлять приблизительно 240 мг. Например, базовая доза пембролизумаба может составлять приблизительно 200 мг.

В некоторых вариантах осуществления Ab против CSF1R при комбинировании с ингибитором PD-1/PD-L1 можно вводить в диапазоне от приблизительно 0,3 до приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 0,5 до приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 0,5 до приблизительно 5 мг/кг или от приблизительно 1 до приблизительно 5 мг/кг массы тела, например приблизительно 0,3, приблизительно 0,5, приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5 или приблизительно 10 мг/кг, вводимых приблизительно каждые две или три недели. В других вариантах осуществления антитело против CSF1R вводят по схеме лечения, отличающейся от ингибитора PD-1/PD-L1. В некоторых вариантах осуществления антитело против CSF1R вводят приблизительно каждую неделю, приблизительно каждые две недели, приблизительно каждые три недели, приблизительно каждые 4 недели, приблизительно каждые пять недель, приблизительно каждые шесть недель, приблизительно каждые семь недель, приблизительно каждые восемь недель, приблизительно каждые девять недель, приблизительно каждые десять недель, приблизительно каждые одиннадцать недель, приблизительно каждые двенадцать недель или приблизительно каждые пятнадцать недель. Дозу антитела против CSF1R или ингибитора PD-1/PD-L1, значительно ниже одобренной терапевтической дозы, можно считать субтерапевтической. Например, дозу, например, приблизительно 0,3 мг/кг или менее приблизительно каждые 3 или 4 недели можно считать субтерапевтической дозой относительно терапевтической дозы приблизительно 3,0 мг/кг каждые 3 недели. В определенных вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 вводят в дозе приблизительно 0,1, приблизительно 0,3, приблизительно 0,5, приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, или приблизительно 5 мг/кг в комбинации с антителом против CSF1R, вводимым в дозе приблизительно 0,1, приблизительно 0,3, приблизительно 0,5, приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5 или приблизительно 10 мг/кг, раз приблизительно каждые 2 недели, раз приблизительно каждые 3 недели или раз приблизительно каждые 4 недели.

В определенных вариантах осуществления комбинацию ингибитора PD-1/PD-L1 и Ab против CSF1R вводят индивидууму внутривенно в фазе индукции приблизительно каждые 2 или 3 недели за 1, 2, 3 или 4 введения. В определенных вариантах осуществления комбинацию ниволумаба и Ab против CSF1R вводят внутривенно в фазе индукции приблизительно каждые 3 недели за приблизительно 4 введения. После фазы индукции следует фаза стабилизации, в течение которой индивидууму вводят только ингибитор PD-1/PD-L1 в дозе приблизительно 0,1, приблизительно 0,3, приблизительно 0,5, приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5 или приблизительно 10 мг/кг каждые две или три недели в течение периода, в течение которого лечение является эффективным или до возникновения неконтролируемой токсичности или прогрессирования заболевания. В определенных вариантах осуществления ниволумаб вводят в течение фазы стабилизации в дозе приблизительно 3 мг/кг массы тела приблизительно каждые 2 недели.

В определенных вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 и антитело против CSF1R составляют в одной композиции, где дозу ингибитора PD-1/PD-L1 и дозу антитела против CSF1R комбинируют в соотношении, например, 1:50, 1:40, 1:30, 1:20, 1:10, 1:5, 1:3, 1:1, 3:1, 5:1, 10:1, 20:1, 30:1, 40:1 или 50:1. В других вариантах осуществления доза антитела против CSF1R является фиксированной до-

зой. В определенных вариантах осуществления доза антитела против CSF1R или ингибитора PD-1/PD-L1 является базовой дозой, вводимой пациенту независимо от массы тела. В конкретном варианте осуществления базовая доза ингибитора PD-1/PD-L1 составляет приблизительно 80 мг.

В случае комбинации с другими противоопухолевыми средствами эти средства вводят в одобренных дозах. Лечение продолжают при условии, что наблюдают клиническое преимущество или до достижения неконтролируемой токсичности или прогрессирования заболевания. Как бы то ни было, в определенных вариантах осуществления вводимые дозы противоопухолевых средств являются значительно более низкими, чем одобренная доза, т.е. субтерапевтическую дозу средства вводят в комбинации с антителом против CSF1R и ингибитором PD-1/PD-L1. Антитело против CSF1R и ингибитор PD-1/PD-L1 можно вводить в дозе, которая, как показано, приводит к наиболее высокой эффективности в качестве монотерапии в клинических испытаниях, например, в случае ниволумаба приблизительно 3 мг/кг ниволумаба, вводимые раз приблизительно каждые три недели (Topalian et al., 2012a; Topalian et al., 2012), или в значительно более низкой дозе, т.е. в субтерапевтической дозе.

Доза и частота введения варьируются в зависимости от времени полужизни Ab в организме индивидуума. В основном, Ab человека демонстрируют наибольшее время полужизни, за ними следуют гуманизированные Ab, химерные Ab и не принадлежащие человеку Ab. Доза и частота введения могут варьироваться в зависимости от того, является ли лечение профилактическим или терапевтическим. При профилактическом применении, как правило, вводят относительно низкую дозу с относительно редкими интервалами в течение длительного периода времени. Некоторым пациентам продолжают проводить лечение в течение всей жизни. При терапевтическом применении иногда необходима относительно высокая доза с относительно короткими интервалами до снижения или прекращения прогрессирования заболевания, или до наблюдения у пациента частичного или полного снижения симптомов заболевания. Затем в отношении пациента можно использовать профилактическую схему.

Конкретные уровни доз активных ингредиентов в фармацевтических композициях по настоящему изобретению можно варьировать так, чтобы получать количество активного ингредиента, эффективное для достижения желаемого терапевтического ответа в случае конкретного пациента, композиции и способа введения, не вызывая чрезмерную токсичность для пациента. Выбранный уровень дозы будет зависеть от множества фармакокинетических факторов, включая активность конкретных используемых композиций по настоящему изобретению, путь введения, время введения, скорость экскреции конкретного используемого соединения, длительность лечения, другие лекарственные средства, соединения и/или материалы, используемые в комбинации с конкретными используемыми композициями, возраст, пол, масса тела, состояние, состояние здоровья и анамнез пациента, подвергаемого лечению, и подобные факторы, хорошо известные в области медицины. Композицию по настоящему изобретению можно вводить одним или несколькими путями введения одним или несколькими из множества способов, хорошо известных в этой области. Как будет понятно специалистам в этой области, путь и/или способ введения будут варьироваться в зависимости от желаемых результатов. Композиции антитела можно вводить индивидуумам по мере необходимости. Определение частоты введения могут осуществлять специалисты в этой области, такие как лечащий врач, с учетом состояния, подвергаемого лечению, возраста индивидуума, подвергаемого лечению, тяжести состояния, подвергаемого лечению, общего состояния здоровья индивидуума, подвергаемого лечению, и т.п. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят индивидууму один или несколько раз. В различных вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят индивидууму раз в месяц, менее раза в месяц, например каждые два месяца или каждые три месяца. В других вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят несколько раз в месяц, например каждые три недели, каждые две недели или каждую неделю. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят раз в 1, 2, 3, 4 или 5 недель. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят два или три раза в неделю. Эффективную дозу антитела вводят индивидууму, по меньшей мере, однократно. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела можно вводить множество раз, включая периоды, по меньшей мере, месяц, по меньшей мере шесть месяцев или, по меньшей мере, год.

Комбинированное лечение.

Антитела можно вводить в отдельности или с другими способами лечения. Их можно осуществлять до, по существу, одновременно или после других способов лечения, например хирургического лечения, химиотерапии, лучевой терапии или введения биологического средства, такого как другое терапевтическое антитело. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование рецидивирует или прогрессирует после терапии, выбранной из хирургического лечения, химиотерапии, лучевой терапии или их комбинации.

Для лечения злокачественного новообразования, как представлено в настоящем описании, антитела можно вводить в комбинации с одним или несколькими дополнительными противоопухолевыми средствами, такими как химиотерапевтическое средство, ингибирующее рост средство, антиангиогенное средство и/или антинеопластическая композиция. Неограничивающие примеры химиотерапевтического средства, ингибирующего рост средства, антиангиогенного средства, противоопухолевого средства и антинеопластической композиции, которые можно использовать в комбинации с антителами по настоя-

щему изобретению, представлены в настоящем описании в разделе "Определения".

Примеры

Описанные ниже примеры являются исключительно примерами по изобретению, и не следует истолковывать их как какое-либо ограничение изобретения. Примеры не предназначены для определения того, что указанные ниже эксперименты являются всеми или единственными осуществленными экспериментами. Были предприняты усилия для обеспечения точности используемых значений (например, количества, температуры и т.д.), но необходимо учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иначе, части являются массовыми частями, молекулярная масса является средневзвешенной молекулярной массой, температура приведена в градусах Цельсия, и давление является атмосферным или близким к нему.

Пример 1. Гуманизированные антитела против CSF1R.

Различные гуманизированные антитела против CSF1R разработаны ранее. См., например, публикацию РСТ № WO 2011/140249.

Последовательности каждой из гуманизированных переменных областей тяжелой цепи и гуманизированных переменных областей легкой цепи, выровненных относительно последовательностей переменных областей родительского химерного антитела и последовательностей акцепторных переменных каркасных областей человека, представлены на фиг. 1 (тяжелые цепи) и 2 (легкие цепи). Изменения последовательностей гуманизированных переменных областей относительно последовательностей акцепторной переменной каркасной области человека выделены рамкой. Каждая из CDR для каждой из переменных областей выделена рамкой и помечена как "CDR" выше последовательностей в рамках.

В табл.8 ниже представлены полные последовательности гуманизированных тяжелых цепей и гуманизированных легких цепей антител huAb1-huAb16. Название и SEQ ID NO гуманизированной тяжелой цепи и гуманизированной легкой цепи каждого из этих антител приведены в табл. 3.

Таблица 3

Гуманизированные тяжелые цепи и легкие цепи huAb1-huAb16

Гуманизированное антитело	Гуманизированная HC	SEQ ID	Гуманизированная LC	SEQ ID
		NO		NO
huAb1	h0301-H0	53	h0301-L0	60
huAb2	h0301-H1	54	h0301-L0	60
huAb3	h0301-H2	55	h0301-L0	60
huAb4	h0301-H0	53	h0301-L1	61
huAb5	h0301-H1	54	h0301-L1	61
huAb6	h0301-H2	55	h0301-L1	61
huAb7	h0302-H1	56	h0302-L0	62
huAb8	h0302-H1	56	h0302-L1	63
huAb9	h0302-H1	56	h0302-L2	64
huAb10	h0302-H2	57	h0302-L0	62
huAb11	h0302-H2	57	h0302-L1	63
huAb12	h0302-H2	57	h0302-L2	64
huAb13	h0311-H1	58	h0311-L0	65
huAb14	h0311-H1	58	h0311-L1	66
huAb15	h0311-H2	59	h0311-L0	65
huAb16	h0311-H2	59	h0311-L1	66

16 гуманизированных антител тестировали на связывание с ECD CSF1R человека, яванского макака и мыши, как описано ранее. См., например, публикацию РСТ № WO 2011/140249. Обнаруживали, что антитела связываются с ECD CSF1R человека и яванского макака, но не с ECD CSF1R мыши. Также обнаруживали, что гуманизированные антитела блокируют связывание CSF1 и ИЛ-34 с CSF1R человека и яванского макака и ингибируют индуцируемое CSF1 и индуцируемое ИЛ-34 фосфорилирование CSF1R человека, экспрессируемого в клетках CHO. См., например, публикацию РСТ № WO 2011/140249.

K_a , k_d и K_D для связывания с ECD CSF1R человека определены ранее и представлены в табл. 4. См., например, публикацию РСТ № WO 2011/140249.

Аффинность связывания гуманизированного антитела с CSF1R человека

huAb	k_a ($M^{-1}c^{-1}$)	K_d (c^{-1})	K_D (Nm)
huAb 0301-L0H0	$3,22 \times 10^6$	$1,11 \times 10^{-03}$	0,35
huAb 0301-L0H1	$3,56 \times 10^6$	$1,22 \times 10^{-03}$	0,34
huAb 0301-L0H2	$2,32 \times 10^6$	$6,60 \times 10^{-04}$	0,28
huAb 0301-L1H0	$3,29 \times 10^6$	$1,15 \times 10^{-03}$	0,35
huAb 0301-L1H1	$2,87 \times 10^6$	$9,21 \times 10^{-04}$	0,32
huAb 0301-L1H2	$2,95 \times 10^6$	$7,42 \times 10^{-04}$	0,25
huAb 0302-L0H1	$3,54 \times 10^6$	$3,69 \times 10^{-03}$	1,04
huAb 0302-L1H1	$3,47 \times 10^6$	$4,04 \times 10^{-03}$	1,17
huAb 0302-L2H1	$1,60 \times 10^6$	$9,14 \times 10^{-04}$	0,57
huAb 0302-L0H2	$3,40 \times 10^6$	$1,79 \times 10^{-03}$	0,53
huAb 0302-L1H2	$2,71 \times 10^6$	$1,53 \times 10^{-03}$	0,56
huAb 0302-L2H2	$1,84 \times 10^6$	$8,40 \times 10^{-04}$	0,46
huAb 0311-L0H1	$1,22 \times 10^6$	$5,40 \times 10^{-04}$	0,44
huAb 0311-L1H1	$1,32 \times 10^6$	$6,64 \times 10^{-04}$	0,50
huAb 0311-L0H2	$1,34 \times 10^6$	$4,73 \times 10^{-04}$	0,35
huAb 0311-L1H2	$1,51 \times 10^6$	$6,09 \times 10^{-04}$	0,40

Пример 2. Корреляция экспрессии CSF1R и Т-клеточного профиля в опухолях.

Для определения корреляции между раковыми Т-клеточными профилями и экспрессии CSF1R использовали данные об экспрессии мРНК из Атласа ракового генома. Атлас ракового генома является общедоступной базой данных, являющейся результатом совместных усилий National Cancer Institute (NCI) и National Human Genome Research Institute (NHGRI). См. cancergenome.nih.gov. Уровни мРНК определяют с использованием платформы Illumina RNASeq. Коэффициенты корреляции FOXP3, CTLA-4, CD274, PDCD1, CD8A и GZMB вычисляют для всех генов в данных RNASeq и для каждого типа злокачественного новообразования. Затем коэффициенты корреляции ранжировали. В данных RNASeq было приблизительно 20486 генов, таким образом, в случае каждого гена ранг корреляции приписывают каждому другому гену. Например, в случае FOXP3 при раке толстого кишечника ранги корреляции находятся в диапазоне от 1 до 20486. CSF1R имеет ранг корреляции 38, что позволяет предполагать, что он сильно коррелирует с экспрессией FOXP3. Высокая корреляция FOXP3 и CSF1R соответствует гипотезе о том, что подтип раков толстого кишечника содержит опухолеассоциированные макрофаги (TAM), экспрессирующие CSF1R, и FOXP3-экспрессирующие клетки Treg. Расширение этого анализа на многие типы злокачественных новообразований и генетические маркеры можно использовать для получения тепловой карты, на которой представлены ткани злокачественных новообразований, имеющие экспрессию CSF1R, коррелирующую с клетками Treg, CD8+ Т-клетками и экспрессией PD-L1. См. фиг. 3.

Пример 3. Эффект антитела против CSF1R и антитела против PD-1 в отношении колоректальных опухолей мыши *in vivo*.

Самок мышей C57BL/6 возрастом семь недель приобретали в Harlan Laboratories (CA) и акклиматизировали их в течение шести дней перед началом исследования. Линию клеток колоректальной карциномы мыши MC38 имплантировали мышам подкожно в правый бок в количестве $0,5 \times 10^6$ клеток/100 мкл/мышь. Перед инокуляцией клетки культивировали в течение трех пассажей в среде RPMI 1640, дополненной 10% термически инактивированной эмбриональной телячьей сывороткой (FBS), 2 mM L-глутамином. Клетки выращивали при 37°C во влажной камере с 5% CO₂. После достижения 80-85% конfluence клетки собирали и ресуспендировали в холодной бессывороточной RPMI 1640 в количестве 5×10^6 клеток на миллилитр.

Мышей мониторовали на рост опухоли дважды в неделю после имплантации клеток. Для измерений опухоли длину и ширину каждой опухоли измеряли с использованием калипера и вычисляли объем по формуле: Объем опухоли (mm^3) = (ширина (мм) × длина (мм))²/2. В день 7 измеряли все опухоли и мышей случайным образом приписывали к исследуемым группам. Средний объем опухоли для всех животных, включенных в исследуемые группы, составлял 58 mm^3 . Исследуемые группы являлись следую-

щами: 1) IgG1 мыши (Bio X Cell, West Lebanon, NH, USA; клон МОРС-21) и IgG2a крысы (Bio X Cell, клон 2A3), 2) антитело против CSF1R (Bio X Cell, клон AFS98) и IgG2a крысы, 3) антитело против PD-1 (Bio X Cell, клон RMP1-14) и IgG1 мыши, или 4) антитело против CSF1R и антитело против PD-1. Опухоли продолжали измерять по меньшей мере дважды в неделю до превышения объемом опухоли 10% массы животного или приблизительно 2000 мм³.

Изменение размера опухоли показано с помощью построения графика среднего объема опухоли относительно дня после инокуляции животных клетками MC38. Введение антитела против CSF1R или антитела против PD-1 значимо снижало рост опухоли по сравнению с контрольным IgG ($P < 0,05$). Комбинирование антитела против CSF1R и антитела против PD-1 приводило к значительному снижению роста опухоли по сравнению с антителом против CSF1R или антителом против PD-1 в отдельности ($P < 0,05$). Значения P вычисляли с использованием анализов двухстороннего t -критерия для независимых выборок для вычисленных объемов опухолей в день 11 после начала введения (см. фиг. 4А и 4В).

Пример 4. Эффект антитела против CSF1R и антитела против PD-1 в отношении опухолей поджелудочной железы мыши *in vivo*.

Самок мышей FVB возрастом восемь недель приобретали в Jackson Laboratories и акклиматизировали в течение двух недель перед началом исследования. Линию клеток аденокарциномы поджелудочной железы мыши, полученных из трансгенных мышей *Kras^{G12D}/Ink4a^{-/-}*, хирургически имплантировали в поджелудочную железу мышей в количестве 0,2×10⁶ клеток/50 мкл/мышь. Перед инокуляцией клетки культивировали в течение не более трех пассажей в среде DMEM, дополненной 10% термически инактивированной эмбриональной телячьей сывороткой (FBS). Клетки выращивали при 37°C во влажной камере с 5% CO₂. После достижения 80-85% конfluenceнтности клетки собирали и ресуспендировали в холодном PBS с матригелем в количестве 4×10⁶ клеток на миллилитр.

Мышей мониторировали на рост опухоли дважды в неделю после имплантации клеток. Мышей осторожно пальпировали по меньшей мере дважды в неделю для оценки относительного размера опухолей поджелудочной железы. В день 12 оценивали все опухоли и мышей случайным образом приписывали к исследуемым группам. Исследуемые группы являлись следующими: 1) IgG1 мыши (Bio X Cell; клон МОРС-21) и контрольный наполнитель, 2) антитело против CSF1R (мышинное антитело со схожей аффинностью к CSF1R мыши, что и у HuAB1 к CSF1R человека) и наполнитель, 3) антитело против CSF1R и гемцитабин (GEM), 4) антитело против PD-1 (Bio X Cell; клон RMP1-14) и GEM, или 5) антитело против CSF1R, антитело против PD-1 и GEM. Введение антитела против CSF1R начинали в день 12, при этом введение антитела против PD-1 и GEM начинали в день 17. Опухоли продолжали измерять по меньшей мере дважды в неделю в течение 20 дней с начала введения антитела против CSF1R.

Изменение размера опухоли показано с помощью построения графика средней массы опухоли для всех групп в конце исследования. Введение антитела против CSF1R или антитела против PD-1 снижало рост опухоли по сравнению с контрольным IgG. Комбинирование антитела против CSF1R и антитела против PD-1 приводило к значимому снижению роста опухоли по сравнению с антителом против CSF1R или антителом против PD-1 в отдельности ($P < 0,05$). Значения P вычисляли с использованием анализов двухстороннего t -критерия для независимых выборок для вычисленных объемов опухолей в день 32 (см. фиг. 5).

Пример 5. Введение антитела против CSF1R повышает количество цитотоксических Т-клеток и экспрессию PD-L1 во множестве моделей опухолей мыши.

Самок мышей C57BL/6 и BALB/c возрастом семь недель приобретали в Charles River Laboratories (Hollister, CA) и акклиматизировали в течение по меньшей мере трех дней до начала исследований. Линии клеток колоректальной карциномы мыши MC38 и CT26 имплантировали иммунокомпетентным мышам подкожно в правый бок. MC38 инокулировали в количестве 0,5×10⁶ клеток/100 мкл/мышь и CT26 имплантировали в количестве 1,0×10⁶/200 мкл/мышь. Перед инокуляцией клетки культивировали в течение трех пассажей в среде RPMI 1640, дополненной 10% термически инактивированной эмбриональной телячьей сывороткой (FBS), 2 mM L-глутамином.

Клетки выращивали при 37°C во влажной камере с 5% CO₂. После достижения 80-85% конfluenceнтности клетки собирали и ресуспендировали в количестве 5×10⁶ клеток на миллилитр в холодной бессывороточной RPMI 1640 (MC38) или RPMI/матригеле (CT26).

Мышей мониторировали на рост опухоли дважды в неделю после имплантации клеток. Для измерений опухоли длину и ширину каждой опухоли измеряли с использованием калипера и вычисляли объем по формуле: Объем опухоли (мм³) = (ширина (мм) × длина (мм))²/2. Все опухоли измеряли, начиная со дня 5 (CT26) или дня 7 (MC38), и мышей случайным образом приписывали к исследуемым группам. Мышам вводили IgG1 мыши (клон МОРС-21) или антитело против CSF1R (cmFPA008). Исследования проводили в течение 21-24 дней после инокуляции и опухоли вырезали и быстро замораживали в жидком азоте.

Для оценки экспрессии генов использовали анализы QuantiGene Plex. Лизировали опухолевую ткань 7-10 мышей на исследуемую группу и оценивали относительную экспрессию множества генов, включая PTPRC (CD45), CD8a, CD4, GZMA, CSF1R и CD274 (PD-L1). Значения экспрессии генов нор-

мализовали по PPIB, GUSB и HPRT, которые использовали в качестве контролей. Экспрессию Cd8a дополнительно нормализовали по CD45 для оценки относительного избытка CD8 или CD4 для определения соотношения клеток CD8 и CD4. На фиг. 8 показаны нормализованные значения экспрессии относительно мышей, которым вводили IgG, для каждой из опухолей MC38 и CT26.

Различия при сравнении относительной экспрессии генов являлись статистически значимыми при $P < 0,05$. Значения P вычисляли с использованием анализов двухстороннего t -критерия для независимых выборок вычисленной экспрессии генов в опухолях в группах, которым вводили антитело против CSF1R (cmFPA008), по сравнению с контрольным IgG. Статистическая значимость представлена на фиг. 8 следующим образом: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

Пример 6. Комбинированное лечение антителом против CSF1R и ингибитором PD-1/PD-L1.

Антитело против CSF1R (антитело, содержащее переменные области тяжелой цепи и легкой цепи SEQ ID NO: 53 и 60 соответственно) вводят в комбинации с антителом против PD-1 в повышенных дозах индивидуумам с множеством типов злокачественных новообразований, включая NSCLC, меланому, SCCN, рак мочевого пузыря и рак поджелудочной железы. Антитело против CSF1R вводят в дозах в диапазоне от 1 до 10 мг/кг. Антитело против CSF1R и антитело против PD-1 вводят одновременно каждые 2 недели.

Антитело против CSF1R и антитело против PD-1 вводят трем подгруппам пациентов с меланомой: наивной (никогда не вводили какое-либо антитело), с развившейся резистентностью (прогрессирующая после исходного ответа антитела против PD-1) и резистентностью *de novo* (не отвечающая на терапию ингибитором PD-1/PD-L1).

В подгруппе индивидуумов до и после лечения осуществляли толстоигольную биопсию для оценки потенциальных изменений в иммунных клетках, строме и опухолевых клетках после лечения. В дополнение к окрашиванию гематоксилином и эозином для оценки общей клеточности опухоли, для мониторинга количества и подтипов макрофагов используют специфические анализы. Пациентов дополнительно мониторируют на общий ответ, связанный с иммунитетом ответ и общую выживаемость.

После лечения комбинацией у некоторых, большинства или всех пациентов повышается количество CD8+ Т-клеток, и/или после лечения комбинацией снижается количество клеток Treg. Кроме того, после лечения комбинацией у некоторых, большинства или всех пациентов снижается количество усиливающих опухоль макрофагов M2 и повышается количество супрессирующих опухоль макрофагов M1. И наконец, после лечения комбинацией у некоторых, большинства или всех пациентов повышается некроз опухоли.

Пример 7. Краткое описание клинического испытания монотерапии и комбинированного лечения антителом против CSF1R и антителом против PD-1.

Антитело против CSF1R.

HuAB1 вводят в виде монотерапии и в комбинации с антителом против PD-1 ниволумабом у пациентов с wybranнми злокачественными новообразованиями на поздних стадиях, которым ранее не вводили ингибитор пути CSF1R в открытом, многоцентровом исследовании с фазой повышения дозы и фазой расширения количества пациентов, которых лечили максимально переносимой дозой. Ниволумаб ранее одобрен для применения при меланоме, метастазирующем NSCLC и в комбинации с ипилимумабом, антителом против CTLA-4 для лечения метастазирующей меланомы. В случае исследуемых групп, которым вводили комбинацию, HuAB1 и ниволумаб будут вводить в день 1 каждого 14-дневного цикла лечения; ниволумаб будут вводить первым в виде IV инфузии в течение 30 мин с 30-минутным перерывом между 2 инфузиями с последующей 30-минутной IV инфузией HuAB1.

Первая фаза исследования (фаза 1a) включает две референсные когорты монотерапии HuAB1 (1aM1 и 1aM2) и три когорты с повышением дозы huAB1 в комбинации с ниволумабом (1aC1, 1aC2 и 1aC3). Вторая фаза исследования (фаза 1b) включает восемь когорт (1b1-1b8) с шестью типами злокачественных новообразований. Всего в исследовании будут принимать участие приблизительно 270 пациентов, 30 в первой фазе и 240 во второй фазе при 30 пациентах в каждой из 8 когорт второй фазы. Отдельных пациентов будут включать не более чем в одну из групп исследования 1aM, 1aC или 1b. На фиг. 6 показана схема дизайна исследования.

В фазе 1a пациентам в когортах монотерапии 1aM1 и 1aM2 вводят 2 мг/кг или 4 мг/кг huAB1 один раз каждые 14 дней (q2w). В когортах комбинированного лечения 1aC1, 1aC2 и 1aC3 вводят 1, 2 или 4 мг/кг HuAB1 и 3 мг/кг ниволумаба один раз каждые 14 дней (q2w). Пациентов в когортах 1aM1 и 1aC1 лечат всего в течение двух 14-дневных циклов в течение 28-дневного периода, а затем лечат другие когорты. Также можно включать когорту, которой вводят 3 мг/кг HuAB1 и 3 мг/кг ниволумаба. В фазе 1a пациентов можно включать в когорты монотерапии или комбинированного лечения, если они имеют гистологически или цитологически подтвержденную солидную опухоль, являющуюся локально рецидивирующей или метастазирующей, прогрессирующую после стандартного лечения или не подходящую для стандартного лечения. Пациентов, ранее подвергавшихся воздействию какого-либо лекарственного средства, воздействующего на путь PD-1, исключают.

В фазе 1b исследуют восемь когорт пациентов следующим образом.

Когорта 1b1: NSCLC (наивная в отношении терапии против PD-1, вторая или третья линия).

Эта когорта может включать пациентов с гистологически или цитологически задокументированным плоскоклеточным или неплоскоклеточным NSCLC с заболеванием стадии IIIB или IV (в соответствии с версией 7 руководства по стадированию в торакальной онкологии International Association for the Study of Lung Cancer Staging manual) и с рецидивирующим или прогрессирующим заболеванием после комбинированного лечения (лучевой терапии, хирургической резекции или радикальной химиолучевой терапии) локального заболевания на поздних стадиях или метастазирующего заболевания. Она может включать пациентов с прогрессированием или рецидивированием в течение/после двухкомпонентной химиотерапии соединениями платины заболевания на поздних стадиях или метастазирующего заболевания. Пациентов, ранее подвергавшихся воздействию какого-либо лекарственного средства, воздействующего на путь PD-1, исключают.

Когорта 1b2: NSCLC (пациенты, рефрактерные к лекарственным средствам против PD-1).

Эта когорта может включать пациентов с гистологически или цитологически задокументированным NSCLC, имеющим локальное заболевание на поздней стадии IIIB или заболевание стадии IV, и пациентов с рентгенологическими признаками прогрессирования заболевания в течение лечения лекарственным средством, воздействующим на путь PD-1, не приводившим к клиническому ответу (т.е. ни CR, ни PR), и с прогрессирующим заболеванием в качестве лучшего ответа. Что касается этой когорты, рефрактерными пациентами являются пациенты, не имевшие клинического ответа после введения по меньшей мере 2 доз какого-либо лекарственного средства, воздействующего на PD-1. Пациентов, не переносивших какое-либо лекарственное средство, воздействующее на путь PD-1, исключают, при этом непереносимость определяют как любой связанный с лечением побочный эффект степени 4 или любой связанный с лечением побочный эффект степени 2 или 3, неприемлемый для пациента и сохраняющийся, несмотря на стандартные контрмеры.

Когорта 1b3: меланома (наивная в отношении терапии против PD-1).

Эта когорта может включать пациентов с гистологически или цитологически задокументированной меланомой стадии III или IV в соответствии с системой стадирования American Joint Committee on Cancer (AJCC), являющихся рефрактерными, непереносимыми или отказавшимися от стандартной терапии для лечения метастазирующей меланомы. Включенные пациенты могут демонстрировать объективные признаки прогрессирования заболевания, несмотря на лечение ингибитором BRAF, или могут иметь BRAF дикого типа. Пациентов, которых ранее подвергали воздействию какого-либо лекарственного средства, воздействующего на путь PD-1, являющихся мутантными по BRAF, или мутационный статус BRAF которых неизвестен или не может быть определен, исключают.

Когорта 1b4: меланома (рефрактерная или рецидивирующая после лекарственного средства против PD-1).

Пациенты в этой когорте могут иметь гистологически или цитологически задокументированную нерезектабельную меланому стадии III или IV в соответствии с системой стадирования AJCC. Включенные пациенты могут демонстрировать рентгенологические признаки прогрессирования заболевания в течение лечения ингибитором контрольных точек или лекарственным средством, воздействующим на PD-1, не приводящим к клиническому преимуществу, или могут демонстрировать во время лечения лекарственным средством, воздействующим на PD-1 прогрессирование заболевания в качестве лучшего ответа или прогрессирование заболевания после исходного клинического преимущества. Что касается этой когорты, рефрактерными пациентами являются пациенты, имевшие клинический ответ после введения по меньшей мере 2 доз какого-либо лекарственного средства, воздействующего на PD-1. Включенные пациенты могут демонстрировать объективные признаки прогрессирования заболевания, несмотря на лечение ингибитором BRAF, или могут иметь BRAF дикого типа. Какую-либо противоопухолевую терапию, включая дакарбазин, ингибитор BRAF (при наличии мутации BRAF V600) и/или ипилимумаб и паллиативную лучевую терапию завершают по меньшей мере за 3 недели до введения исследуемого лекарственного средства, и лечение лекарственным средством, воздействующим на PD-1, прерывают по меньшей мере за 6 недель до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства. Пациентов, непереносивших какое-либо лекарственное средство, воздействующее на путь PD-1, как определено выше, исключают, как и пациентов, мутантных по BRAF, или мутационный статус BRAF которых неизвестен или не может быть определен.

Когорта 1b5: плоскоклеточная карцинома головы и шеи (SCCHN) (вторая линия).

В эту когорте можно включать пациентов, имеющих гистологически или цитологически задокументированную рецидивирующую или метастазирующую SCCHN (ротовой полости, глотки, гортани) стадии III или IV и не поддающихся местной терапии с лечебной целью (хирургическое лечение или лучевая терапия с химиотерапией или без нее). У пациентов также могут наблюдать прогрессирование или рецидивирование в пределах 6 месяцев с момента введения последней дозы терапии соединениями платины в условиях вспомогательной терапии (т.е. с лучевой терапией после хирургического лечения), основной терапии (т.е. с лучевой терапией), рецидивирования или метастазирования. Клиническое прогрессирование после терапии соединениями платины является допустимым событием для включения в исследование, и его определяют как прогрессирование очага поражения размером по меньшей мере 10 мм, поддающемуся измерению калипера (например, поверхностное повреждение кожи в соответствии с

RECIST версии 1.1), или очага поражения, визуализируемого и фотографируемого с измерениями, и показано, что он прогрессирует. Пациентов, ранее подвергавшихся воздействию лекарственного средства против PD-1, исключают.

Когорта 1b6: рак поджелудочной железы (вторая линия).

Включенные пациенты могут иметь гистологически или цитологически задокументированную локализованную или метастазирующую аденокарциному поджелудочной железы, не поддавшуюся стандартной терапии (или для которой не показана стандартная терапия). Пациентов также ранее могли подвергать хирургическому лечению, лучевой терапии для лечения местной аденокарциномы поджелудочной железы на поздней стадии или метастазирующей аденокарциномы поджелудочной железы при условии, что прогрессирование заболевания задокументировано. Все токсичности необходимо устранить, и последнюю фракцию лучевой терапии завершали по меньшей мере за 4 недели до первого введения исследуемого лекарственного средства. Пациентов, ранее подвергавшихся воздействию лекарственного средства против PD-1, исключают.

Когорта 1b7: колоректальный рак (третья линия).

Включенные пациенты могут иметь гистологически или цитологически задокументированную аденокарциному толстого кишечника или прямой кишки, и они могут иметь метастазирующий колоректальный рак с задокументированным прогрессированием заболевания после последнего проведения стандартной терапии или при непереносимости стандартной терапии (и одобренная терапия должна включать фторпиримидин, оксалиплатин, иринотекан, бевацизумаб и, в случае KRAS дикого типа, цетуксимаб или панитумумаб). Пациентов, ранее подвергавшихся воздействию лекарственного средства против PD-1, исключают.

Когорта 1b8: злокачественная глиома (первый рецидив).

Пациенты в этой когорте могут иметь гистологически или цитологически задокументированную злокачественную глиому на поздней стадии IV (глиобластома или глиосаркома) согласно критериям Всемирной организации здравоохранения (WHO), и ранее их могли подвергать хирургическому лечению, лучевой терапии и лечению темозоломидом. Пациенты могут иметь задокументированный первый рецидив при диагностической биопсии или контрастной МРТ, осуществляемой в течение 21 дня после первого введения исследуемого лекарственного средства согласно критериям Response Assessment in Neuro-oncology (RANO). Пациентов исключают, если их ранее лечили бевацизумабом или другим средством, воздействующим на VEGF или рецептор VEGF, у них наблюдали более 1 рецидива глиобластомы или глиосаркомы или их ранее подвергали воздействию какого-либо лекарственного средства, воздействующего на PD-1.

Пациентам из группы монотерапии вводят HuAB1 в виде 30-минутной IV инфузии. Пациентам из группы комбинированного лечения проводили инфузию ниволумаба сначала в дозе 3 мг/кг в виде 30-минутной IV инфузии в день 1 каждого 14-дневного цикла лечения. Им вводили HuAB1 после инфузии ниволумаба в день 1 каждого 14-дневного цикла лечения с 30-минутным интервалом между двумя инфузиями.

Биоптат в очаге опухоли получают перед днем 1 первого цикла исследования и снова в день 29. Пациентов также оценивали на общую выживаемость после исследования, выживаемость без прогрессирования и длительность ответа в случае пациентов с подтвержденными ответами на основе критериев RECIST версии 1.1. КТ/МРТ (грудной клетки, брюшной полости, таза и головного мозга) осуществляют перед днем 1, в течение лечения и после исследования и осуществляют измерения опухолевой массы. Основным параметром ответа является частота объективных ответов, представляющая собой количество пациентов с полным или частичным ответом, разделенное на общее количество подвергнутых лечению пациентов с измеримым заболеванием на исходном уровне. Ответ опухоли оценивают с использованием RECIST версии 1.1, приложение F.

Пример 8. Полный протокол клинического испытания фазы 1a и 1b - клиническое испытание монотерапии и комбинированного лечения с использованием антитела против CSF1R (HuAB1, также известного как GRA008) и антитела против PD-1 (ниволумаба).

1 Введение и обоснование исследования.

Рецептор колониестимулирующего фактора 1 и опухолеассоциированные макрофаги.

Макрофаги являются клетками миелоидного роста, осуществляющими множество функций в организме человека. Они могут колонизировать ткани (и опухолями) двумя различными механизмами: гематогенным диссеминацией из циркулирующих моноцитов или местным самоподдержанием в форме тканевых резидентных макрофагов (Lavin, 2013). Недавние исследования показали, что макрофаги оказывают свой физиологический эффект и играют уникальную роль в тканях, в которых они являются активными (Lavin, 2014). Регуляция макрофагов является сложной, т.к. эти клетки активно секретируют и отвечают на различные градиенты цитокинов и хемокинов в их микроокружении.

Опухлеассоциированные макрофаги (TAM) являются одними из наиболее распространенных типов иммунных клеток в опухолевом микроокружении. Существенные факты свидетельствуют о том, что TAM поляризованы в сторону противовоспалительного фенотипа (M2), ингибирующего противоопухолевые иммунные ответы (Noy, 2014) посредством межклеточного контакта и растворимых факторов, та-

ких как иммуносупрессорные цитокины. В соответствии с этим повышенные уровни TAM ассоциированы с неблагоприятным прогнозом при большинстве злокачественных новообразований (Komohara, 2014).

После лечения средствами против CSF1R макрофаги, не подвергнутые истощению, могут реполяризоваться из иммуносупрессорного состояния M2 в противоопухолевое состояние M1, которое будет поддерживать Т-клеточные ответы. Это преобразование, ассоциированное со способами сопутствующего лечения, такими как лечение, направленное против PD-1, может иметь повышенный эффект в отношении снижения роста опухоли (Ruffell, 2015).

В продолжающихся исследованиях PD-L1 показано, что доли ответивших коррелируют с концентрацией PD-1/PD-L1 в строме опухоли (Tumeh, 2014). Примечательно, что в строме опухоли также есть значительное количество макрофагов, т.к. рекрутирование моноцитов в строму опухоли приводит к их развитию в супрессорные макрофаги M2. Показано, что связывание моноцитов и макрофагов с PD-L1 супрессирует опухолеспецифичный Т-клеточный иммунитет и коррелирует с плохой выживаемостью пациентов. Как и ожидалось, показано, что блокада моноцитассоциированных PD-L1-положительных клеток *in vivo* улучшает опухолеспецифичный Т-клеточный иммунитет. Исследования *in vitro* также показали, что активированные моноциты, экспрессирующие PD-L1, в значительной степени предотвращают пролиферацию опухолеспецифичных Т-клеток, продукцию цитокинов и цитотоксический потенциал (Kuang, 2009).

Передача сигнала рецептора колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R) играет фундаментальную роль в дифференцировке, поддержании и функционировании макрофагов и подгруппы других клеток миелоидного ростка, включающей моноциты и остеокласты (Hamilton, 2013). Двумя известными лигандами CSF1R являются CSF1 и ИЛ-34. Оба этих агониста связываются с перекрывающимися областями CSF1R со схожей аффинностью (Masteller, 2014), даже притом, что они обладают незначительной гомологией аминокислотных последовательностей друг с другом. Мыши, у которых отсутствует CSF1R, имеют дефицит макрофагов, что подчеркивает важную роль пути CSF1R в биологии этого типа клеток (Dai, 2002). Ожидают, что фармакологические средства, блокирующие CSF1R в условиях злокачественного новообразования, будут снижать или перепрограммировать TAM и снижать иммуносупрессию. В целом, это может приводить к образованию опухолевого микроокружения, более благоприятного для иммунотерапии злокачественных новообразований.

HuAB1 является рекомбинантным, гуманизированным моноклональным антителом G4 (IgG4), связывающимся с CSF1R человека. Взаимодействие HuAB1 и CSF1R противодействует связыванию CSF1 и ИЛ-34 с CSF1R, таким образом, предотвращая активацию рецептора. HuAB1 ингибирует индуцируемое CSF1 и ИЛ-34 фосфорилирование CSF1R в линии клеток, сконструированной для гиперэкспрессии CSF1R (CHO-CSF1R), посредством чего экспериментально показано, что HuAB1 блокирует активацию индуцируемой лигандом передачи сигнала CSF1R. HuAB1 также ингибирует индуцируемую CSF1 и ИЛ-34 пролиферацию и выживание моноцитов периферической крови *in vitro*, что свидетельствует о том, что HuAB1 ингибирует не только инициацию передачи сигнала CSF1 и ИЛ-34, но также и последующие физиологические ответы первичных моноцитов человека на эти лиганды.

В совокупности, эти и другие полученные данные позволяют предполагать, что блокирование CSF1R посредством лечения с использованием HuAB1 может уменьшать иммуносупрессорное окружение опухоли, генерируемое TAM, и может улучшать эффективность иммунотерапии злокачественных новообразований.

PD-1.

Белок программируемой гибели клеток-1 (PD-1; CD279) является сигнальным рецептором поверхности клетки, передающим ингибиторные сигналы, регулирующие баланс между активацией Т-клеток и переносимостью посредством взаимодействия с его лигандами, PD-L1 (CD274; B7-H1) и PD-L2 (B7-DC/CD273). Он является трансмембранным белком типа I массой 55 кДа, являющимся членом семейства CD28 Т-клеточных костимуляторных рецепторов, которое также включает индуцибельный костимулятор (ICOS), антиген-4 цитотоксических Т-лимфоцитов (CTLA-4) и В- и Т-лимфоцитарный аттенуатор (BTLA) (Freeman, 2000). PD-1 содержит внутриклеточный проксимальный к мембране иммунорецепторный тирозиновый ингибирующий мотив (ITIM) и дистальный относительно мембраны иммунорецепторный тирозиновый мотив-переключатель (ITSM). PD-1, главным образом, экспрессируется на активированных Т-клетках, В-клетках и миелоидных клетках (Nishimura, 2001a). Показано, что его лиганды, PD-L1 и PD-L2, отрицательно регулируют активацию Т-клеток после связывания с PD-1 в мышинных и человеческих системах (Carter, 2002; Latchman, 2001). PD-1 передает отрицательный сигнал посредством рекрутирования SHP-2 к фосфорилированному остатку тирозина в ITSM в его цитоплазматической области (Chemnitz, 2004; Sheppard, 2004).

Доказательства отрицательной регуляторной роли PD-1 получены в исследованиях мышей с дефицитом PD-1, у которых развиваются различные аутоиммунные фенотипы, включая дилатационную кардиомиопатию и волчаночный синдром с артритом и нефритом (Nishimura, 1999; Nishimura, 2001b; Okazaki, 2003). Появление этих аутоиммунных фенотипов зависит от генетического фона линии мышей; многие из этих фенотипов появляются в различные моменты времени и демонстрируют переменную пенетрантность. В дополнение к фенотипам нуль-мутаций, обнаружено, что ингибирование PD-1 с помо-

шью антителоопосредованной блокады на нескольких мышинных моделях играет роль в развитии ауто-иммунных заболеваний, таких как энцефаломиелит, реакция "трансплантат против хозяина" и диабет I типа (Ansari, 2003; Blazar, 2003; Salama, 2003). В совокупности, эти результаты позволяют предполагать, что блокада PD-1 обладает потенциалом к активации ответов аутореактивных Т-клеток, но эти ответы являются переменными и зависят от различных генетических факторов хозяина. Таким образом, дефицит или ингибирование PD-1 не сопровождается общей утратой толерантности к аутоантигенам.

Средство против PD-1, ниволумаб, клинически тестировали на нескольких типах опухолей, включая NSCLC, меланому и почечноклеточную карциному (RCC), в виде монотерапии или в комбинации с другим лечением. Некоторые из данных об эффективности из Брошюры исследователя ниволумаба (IB) представлены в табл. 1 ниже. Ниволумаб в качестве монотерапии обладает примечательной длительной эффективностью в подгруппе пациентов. Повышенный эффект комбинаций ниволумаба позволяет предполагать наличие потенциальных возможностей с дополнительными преимуществами для пациентов в виде комбинированной схемы лечения с другими нетестированными средствами.

Ниволумаб является средством, одобренным FDA в настоящее время для нерезектабельной или метастазирующей меланомы и прогрессирования заболевания после лечения ипилимумабом и при наличии мутации BRAF V600 ингибитором BRAF. Он также одобрен для метастазирующего плоскоклеточного немелкоклеточного рака легких (NSCLC) при прогрессировании во время химиотерапии соединениями платины или после нее.

Краткие данные о клинической эффективности ниволумаба при меланоме, NSCLC и RCC

Исследование	Исследование	Опухоль	Ответ		
			ORR	DOR	OS
Номер	Лекарственные средства	Тип			
MDX1106-03	Ниволумаб	NSCLC	17%	17 месяцев	24% через 24 месяца
CA209012	Ниволумаб	NSCLC	30%	NR	-
	Ниволумаб+ипилimumаб	NSCLC	13-20%	NR	-
	Ниволумаб+химиотерапия	NSCLC	33-47%	25, 4-45 недели	-
	Ниволумаб+эрлотиниб	NSCLC	19%	NR	-
CA209017 ^a	Ниволумаб	NSCLC	-	-	9, 2 месяцев
CA209063 ^b	Ниволумаб	NSCLC	14, 5%	NR	-
MDX1106-03	Ниволумаб	Меланома	31%	>6 месяцев	48% через 24 месяца
CA209004	Ниволумаб+ипилimumаб	Меланома	42-43%	-	85% через 12 месяцев
CA209037 ^c	Ниволумаб	Меланома	31, 7%	-	-
CA209038	Ниволумаб	Меланома	18-32%	-	-
MDX1106-03	Ниволумаб	RCC	21%	>6 месяцев	48% через 24 месяца
CA209010	Ниволумаб	RCC	20-22%	-	18, 2 месяцев
CA209016	Ниволумаб+ипилimumаб	RCC	43-48%	-	-
	Ниволумаб+суниитиниб	RCC	52%	-	-
	Ниволумаб+пазопаиниб	RCC	45%	-	-

^a Вкладыш в упаковку Opdivo, 2015.^b Rizvi, 2015.^c Weber, 2015.

1.1. Обоснование комбинированного лечения HuAB1 и ниволумабом.

HuAB1 является гуманизированным моноклональным антителом против CSF1R. Показано, что направленное воздействие на путь CSF1R с использованием антител или низкомолекулярных ингибиторов является эффективным в моделях опухолей сингенных мышей. В модели аденокарциномы толстого ки-

щечника MC38 на мышах антитело против CSF1R приводило к значительному снижению TAM, чему сопутствовал положительный сдвиг соотношения CD8⁺ и CD4⁺ в сторону цитотоксических CD8⁺ Т-клеток. В недавнем клиническом исследовании RG7155 (антитело против CSF1R) тестировали на пациентах с солидными опухолями, и, как показано, оно значительно снижало CSF1R⁺CD163⁺ макрофаги в опухолях (Ries, 2014). Это снижение макрофагов также ассоциировано со снижением FOXP3⁺ регуляторных Т-клеток. Эти данные позволяют предполагать, что блокада CSF1R косвенно влияла на другие иммунные эффекторные клетки. В модели пронеуральной мультиформной глиобластомы (GBM) ингибирование CSF1R низкомолекулярным соединением значительно снижало выживаемость и приводило к регрессированию развившихся опухолей (Pyonteck, 2013). В этой модели TAM не подвергали истощению, но вместо этого преобразовывали в более провоспалительный фенотип при наличии ингибирования CSF1R.

В модели ортотопической протоковой аденокарциномы поджелудочной железы (PDAC) блокада пути CSF1R низкомолекулярным соединением или антителом против CSF1 селективно снижала иммуносупрессорные TAM, затем снижая иммуносупрессию. Это снижение иммуносупрессорных TAM позволяет остальным провоспалительным TAM поддерживать презентацию антигена и способствовать противоопухолевому Т-клеточному ответу (Zhu, 2014). Это, в свою очередь, приводит к усилению интерферонового ответа, положительно регулирующего ингибиторы Т-клеточных контрольных точек, включая PD-L1, на опухолевых клетках. Эта контррегуляция приводит к ограничению противоопухолевого Т-клеточного ответа посредством вовлечения Т-клеточного ингибитора PD-1. Важно, что с помощью лечения, направленного против PD-1, можно преодолевать PD-L1-опосредованное ингибирование.

Направленное воздействие на PD-1 в качестве монотерапии демонстрировало ограниченную эффективность в ограничении роста опухоли PDAC, но комбинирование блокады PD-1 с ингибированием CSF1R потенциально вызывает регрессирование опухоли даже в случае крупных, развившихся опухолей.

В совокупности, эти данные позволяют предполагать, что перепрограммирование компартмента TAM в опухолях с помощью опосредованной NuAB1 блокады CSF1R может снижать иммуносупрессорные TAM в микроокружении опухоли и улучшать эффективность иммунотерапевтических средств на основе ингибиторов контрольных точек, таких как ниволумаб.

1.2. Обоснование комбинированного лечения NuAB1/ниволумабом при выбранных типах опухолей.

TAM потенциально могут супрессировать противоопухолевые иммунные ответы. CSF1R является рецептором поверхности клетки, экспрессирующимся на TAM и регулирующим их выживание и функционирование. Показано, что CSF1R-блокирующие антитела снижают TAM в опухолях мыши и человека (Ries, 2014). TAM присутствуют во множестве злокачественных новообразований человека, что позволяет предполагать, что CSF1R-блокирующие антитела, такие как NuAB1, можно использовать для лечения множества типов опухолей. Кроме того, показано, что TAM коррелируют с неблагоприятным прогнозом при ряде злокачественных новообразований, включая, помимо прочего, рак легких, поджелудочной железы, головы и шеи и меланому, (Komohara, 2014). Кроме того, при анализе Атласа ракового генома наблюдают сильную корреляцию CSF1R с коэкспрессией PD-1/PD-L1 и Т-клеточными профилями при раке головы и шеи, раке легких и меланоме, а также других. В доклинических моделях также показано, что ингибирование CSF1R изменяет поляризацию макрофагов и блокирует прогрессирование глиомы (Pyonteck, 2013). Блокада CSF1R также снижает TAM и действует синергично с блокадой контрольных точек PD-1 и CTLA4 в моделях рака поджелудочной железы (Zhu, 2014). Также показано, что клетки колоректальных опухолей экспрессируют относительно более низкие уровни PD-L1 по сравнению с меланомой или раком легких, и что наблюдаемые уровни PD-L1 присутствуют на инфильтрирующих миелоидных клетках (Llosa, 2015).

В настоящее время ниволумаб тестируют при многих типах опухолей, включая все типы опухолей, предложенные для фазы 1b этого исследования. Новые данные о ниволумабе могут способствовать расширению фазы 1b этого исследования в отношении выбранных типов опухолей.

В дополнение к текущим исследованиям ниволумаб одобрен для применения при меланоме и плоскоклеточном NSCLC. Одобрение для применения при меланоме основано на результатах исследования CheckMate 037. В этом исследовании эффективность и безопасность ниволумаба сравнивали с выбранной исследователем химиотерапией (ICC) в качестве лечения второй линии или последующей линии у пациентов с меланомой на поздней стадии. В этом исследовании 272 пациентов рандомизировали в группу ниволумаба, а 133 - в группу ICC. Подтвержденные объективные ответы наблюдали у 32% первых 120 пациентов в группе ниволумаба по сравнению с 11% пациентов в группе ICC. Побочные эффекты степени 3-4, приписываемые ниволумабу, включали повышение липазы, повышение АЛТ, анемию и утомляемость (по 1% каждый); в случае ICC они включали нейтропению (14%), тромбоцитопению (6%) и анемию (5%). Также наблюдали связанные с лекарственным средством SAE степени 3-4 у 5% пациентов, подвергнутых лечению ниволумабом, и 9% пациентов в группе ICC. Не было связанных с лечением смертей (Weber, 2015).

Одобрение применения ниволумаба при NSCLC основано на результатах исследования CheckMate 017 и CheckMate 063. CheckMate 017 включало пациентов с метастазирующим плоскоклеточным NSCLC, у которых наблюдали прогрессирование заболевания в течение или после одной предшествующей схемы

двухкомпонентной химиотерапии соединениями платины. OS при лечении ниволумабом составляла 9,2 месяцев по сравнению с 6,0 месяцами в случае доцетаксела (вкладыш в упаковку Opdivo, 2015). В CheckMate 063 оценивали активность ниволумаба у пациентов с рефрактерным плоскоклеточным NSCLC на поздней стадии. В исследование включали и лечили 117 пациентов. Из них 14,5% пациентов имели объективный ответ, оцениваемый независимым органом рентгенологической экспертизы, и 26% имели стабильное заболевание. Среднее время до развития ответа составляло 3,3 месяца, и средней длительности не достигали. Из 17 ответов 77% продолжались на момент анализа. Из 117 пациентов у 17% наблюдали связанные с лечением АЕ степени 3-4, включая: утомляемость (4%), пневмонит (3%) и диарею (3%). Было две связанных с лечением смерти, вызванных пневмонией и ишемическим инсультом, развившимися у пациентов с многочисленными сопутствующими заболеваниями в условиях прогрессирующего заболевания (Rizvi, 2015).

Изложенные выше данные обосновывают исследование НuAB1 в комбинации с ниволумабом при меланоме, NSCLC, раке головы и шеи, поджелудочной железы, колоректальном раке и глиоме.

1.3. Обоснование начальной дозы для повышения дозы монотерапии и комбинации НuAB1.

Спонсор уже начал впервые проводимое на людях клиническое исследование фазы 1, спланированное в 3 частях для оценки безопасности, PK и биомаркеров при монотерапии НuAB1 на здоровых добровольцах и пациентах с ревматоидным артритом (RA) (исследование FPA008-001). В частях 1 и 2 этого исследования НuAB1 тестировали на здоровых добровольцах в дозах 0,2, 1, 3 и 10 мг/кг массы тела. В группе здоровых добровольцев в группе 1 мг/кг 7 индивидуумам вводили однократную дозу и 5 индивидуумам вводили 2 дозы; в группе 3 мг/кг 10 индивидуумам вводили однократную дозу и 2 индивидуумам вводили 2 дозы; в группе 10 мг/кг 6 индивидуумам вводили однократную дозу НuAB1. В когортах многократных доз дозы вводили с интервалом 14 дней и всех индивидуумов подвергали последующему обследованию на дозолимитирующие токсичности (DLT) в течение 28-дневного окна.

На 23 сентября 2014 г. 48 индивидуумов завершили части 1 и 2 исследования. Не наблюдали DLT в частях 1 или 2. Все побочные эффекты (АЕ) имели степени 1 или 2 и ограничивались наиболее распространенными связанными с лечением НuAB1 токсичностями, представляющими собой зуд, отек век вместе с отеком лица, утомляемость и головную боль. Наблюдали временное повышение ферментов сыворотки, таких как креатинкиназа (СК), лактатдегидрогеназа (LDH), аланинаминотрансфераза (АЛТ) и аспаратаминотрансфераза (АСТ).

В текущей части 3 исследования фазы 1 пациенты с RA, не отвечавшие на модифицирующие заболевание средства против ревматоидного артрита (DMARD), участвуют в открытом исследовании с разными уровнями доз НuAB1 1, 3 и 6 мг/кг массы тела. Необходимо стабильно еженедельно вводить пациентам дозу метотрексата до и в течение исследования, и им будут вводить 2 дозы НuAB1 с интервалом 14 дней. В дополнение к другим анализам пациентов подвергают последующему обследованию на безопасность, фармакокинетику (PK) и фармакодинамику (PD) после 2-дозовой схемы лечения.

В совокупности 36 здоровым добровольцам и 6 пациентам с RA вводили НuAB1 до настоящего времени, не наблюдали DLT в частях 1 или 2 и значительных связанных с лечением токсичностей у пациентов с RA при уровнях доз 1 мг/кг или 3 мг/кг. Профиль безопасности ниволумаба хорошо изучен и подтвержден недавними регистрационными удостоверениями лекарственных средств США для лечения меланомы и плоскоклеточного NSCLC. Количество индивидуумов, которым вводили дозы, оцениваемые уровни доз и существующий общий профиль АЕ НuAB1 и ниволумаба подтверждают правильность одновременного начала исследования в когортах монотерапии 2 мг/кг НuAB1 и комбинированного лечения 1 мг/кг НuAB1 с 3 мг/кг ниволумаба в этом исследовании.

Часть фазы 1a этого исследования будет состоять из двухэтапного повышения дозы монотерапии НuAB1 с 2 мг/кг до 4 мг/кг НuAB1. Также будут осуществлять трехэтапное повышение фиксированной дозы с 3 мг/кг ниволумаба в комбинации с 1 мг/кг НuAB1 до 2 мг/кг НuAB1, а затем 4 мг/кг НuAB1.

Когорту монотерапии 4 мг/кг НuAB1 будут набирать после завершения 28-дневного периода DLT в когорте монотерапии 2 мг/кг НuAB1. Исследование в когорте комбинации 2 мг/кг НuAB1/ниволумаба будут начинать после завершения периода DLT в когорте комбинации 1 мг/кг НuAB1/ниволумаба и когорте монотерапии 2 мг/кг НuAB1. Когорту комбинации 4 мг/кг НuAB1/ниволумаб будут набирать после завершения периода DLT в когортах комбинации 1 мг/кг и 2 мг/кг НuAB1/ниволумаб и в когортах монотерапии 2 мг/кг и 4 мг/кг НuAB1. Схема повышения дозы представлена на фиг. 7.

В отношении всех пациентов будут осуществлять схему непрерывного введения каждые 14 дней и последующего обследования до прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности или отзыва согласия на исследование.

1.4. Обоснование введения посредством 30-минутной инфузии для каждого исследуемого лекарственного средства.

Длительное время инфузии, особенно при последовательном введении индивидууму множества средств, возлагает бремя на пациентов и лечебные центры.

НuAB1, ингибитор CSF1R, вводили в течение 30 мин в исследованиях на здоровых добровольцах, а также пациентах с RA.

Ниволумаб вводили безопасно в течение 60 мин в дозах в диапазоне до 10 мг/кг в течение длитель-

ного времени лечения. В исследовании CA209010 (фаза 2, рандомизированное, двойное слепое исследование диапазона доз ниволумаба на индивидуумах с светлоклеточным RCC на поздней стадии/метастазирующим светлоклеточным RCC) наблюдали взаимосвязь с дозой в случае реакций в месте инфузии и реакций гиперчувствительности (1,7% при 0,3 мг/кг, 3,7% при 2 мг/кг и 18,5% при 10 мг/кг). Все эффекты являлись эффектами степени 1 или 2 и поддавались контролю. Не ожидали, что длительность инфузии 30 мин в случае 3 мг/кг ниволумаба (30% дозы 10 мг/кг) будет вызывать более серьезные опасения в отношении безопасности по сравнению с предшествующим опытом с 10 мг/кг ниволумаба, инфузируемым в течение 60 мин.

В целом, инфузионные реакции, включая сильные реакции гиперчувствительности, не были распространены в клинических исследованиях ниволумаба и HuAB1. Кроме того, 30-минутный интервал после инфузии ниволумаба в когортах комбинаций будет обеспечивать время для соответствующего мониторинга безопасности перед началом инфузии HuAB1. В целом, не прогнозируют изменение профиля безопасности при 30-минутной инфузии ниволумаба или HuAB1 как в отдельности, так и в комбинации.

1.5. Цели исследования.

Целью фазы 1a этого исследования является оценка безопасности и переносимости после введения HuAB1 в качестве монотерапии, также в комбинации с ниволумабом у пациентов со злокачественными новообразованиями на поздних стадиях и идентификация рекомендуемой дозы (RD) HuAB1 для комбинации в фазе 1b этого исследования.

Целью фазы 1b этого исследования является дальнейшая характеристика профиля безопасности HuAB1 в комбинации с ниволумабом и оценка клинического преимущества при RD комбинированного лечения HuAB1/ниволумабом у пациентов с выбранными злокачественными новообразованиями на поздних стадиях.

1.6. Цели.

1.6.1. Цели фазы 1a.

1.6.1.1. Первичные.

Оценка безопасности и переносимости HuAB1 в качестве монотерапии.

Оценка безопасности и переносимости HuAB1 в комбинации с ниволумабом.

Определение RD HuAB1 в комбинации с фиксированной дозой ниволумаба.

1.6.1.2. Вторичные.

Характеризация профиля PK HuAB1.

Характеризация пика PK и профиля остаточной концентрации ниволумаба при введении в комбинации с HuAB1.

Характеризация профиля PD huAB1 и ниволумаба.

Характеризация иммуногенности huAB1 и ниволумаба.

Оценка взаимосвязи параметров, выбранных биомаркеров и параметров клинической эффективности с использованием биоптатов опухолей, полученных перед лечением и в ходе лечения.

1.6.1.3. Исследовательские.

Дальнейшая характеристика профиля PD HuAB1 и ниволумаба.

1.6.2. Цели фазы 1b.

1.6.2.1. Первичные.

Оценка клинического преимущества HuAB1 в комбинации с ниволумабом у пациентов с выбранными злокачественными новообразованиями на поздних стадиях посредством анализа частоты объективных ответов (ORR).

Оценка безопасности и переносимости HuAB1 в комбинации с ниволумабом у пациентов с выбранными злокачественными новообразованиями на поздних стадиях, подвергаемых лечению при RD.

1.6.2.2. Вторичные.

Оценка клинического преимущества HuAB1 в комбинации с ниволумабом у пациентов с выбранными злокачественными новообразованиями на поздних стадиях посредством анализа общей выживаемости (OS), длительности ответа (DOR) и выживаемости без прогрессирования (PFS).

Характеризация профиля PK HuAB1.

Характеризация пика PK и профиля остаточной концентрации ниволумаба при введении в комбинации с HuAB1.

Характеризация профиля PD huAB1 и ниволумаба.

Характеризация иммуногенности huAB1 и ниволумаба.

Оценка взаимосвязи параметров, выбранных биомаркеров и параметров клинической эффективности с использованием биоптатов опухолей, полученных перед лечением и в ходе лечения.

1.6.2.3. Исследовательские.

Дальнейшая характеристика профиля PD HuAB1 и ниволумаба.

1.7. Разработка продукта.

1.7.1. Механизм действия.

1.7.1.1. HuAB1.

HuAB1 является рекомбинантным, гуманизированным моноклональным антителом IgG4, связы-

вающимся с CSF1R человека. Связывание HuAB1 с CSF1R противодействует его природным лигандам, CSF1 и ИЛ-34, таким образом, предотвращая активацию CSF1R. HuAB1 содержит одну замену аминокислоты в шарнирной области для предотвращения обмена полудимеров.

HuAB1 ингибирует индуцируемое CSF1 и ИЛ-34 фосфорилирование CSF1R в линии клеток, сконструированной для гиперэкспрессии CSF1R (CHO-CSF1R), что свидетельствует о том, что HuAB1 блокирует активацию индуцируемую лигандом передачу сигнала CSF1R. HuAB1 также ингибирует индуцируемую CSF1 и ИЛ-34 пролиферацию и выживание моноцитов периферической крови *in vitro*, что свидетельствует о том, что HuAB1 ингибирует не только иницирование передачи сигнала CSF1 и ИЛ-34, но также и последующие физиологические ответы первичных моноцитов человека на эти лиганды.

CSF1R экспрессируется на клетках моноцитарного/макрофагального ростка, и передача сигнала через CSF1R посредством его лигандов, CSF1 и ИЛ-34, поддерживает дифференцировку, поддержание и функционирование моноцитов, макрофагов и остеокластов. TAM являются одними из наиболее распространенных типов иммунных клеток в микроокружении опухоли. Существенные доказательства позволяют предполагать, что TAM поляризуются в сторону противовоспалительного фенотипа и посредством ингибиторов поверхности клетки и растворимых факторов, таких как иммуносупрессорные цитокины, играют ключевую роль в ингибировании противоопухолевых иммунных ответов (Noy, 2014). CSF1 является основным фактором выживаемости TAM, и направленное воздействие на CSF1R посредством HuAB1 должно снижать TAM-опосредованную иммуносупрессию, приводящую к усилению противоопухолевого ответа на иммунотерапию. Таким образом, лекарственное средство, ингибирующее CSF1R, должно ограничивать иммуносупрессорное влияние TAM на микроокружение опухоли и может дополнять и усиливать существующие способы терапии злокачественных новообразований.

Т.к. huAB1 не реагирует перекрестно с CSF1R мыши, разрабатывали заместительное антитело, cmHuAB1, связывающееся и блокирующее CSF1R мыши со схожей активностью относительно наблюдаемого для HuAB1 против CSF1R человека. cmHuAB1 содержит варибельные области крысы и Fc-область IgG1 мыши. Связывание cmHuAB1 с CSF1R мыши продемонстрировано в прямом твердофазном иммуноферментном анализе связывания (ELISA), и ингибиторная активность cmHuAB1 продемонстрирована их способностью ингибировать индуцируемую CSF1 и индуцируемую ИЛ-34 пролиферацию CSF1/ИЛ-34-зависимой линии клеток (mNFS60). Значение EC_{50} для связывания cmHuAB1 с CSF1R мыши составляет 2,4 нг/мл, и значения IC_{50} для ингибирования индуцируемой CSF1 мыши и индуцируемой ИЛ-34 мыши пролиферации/выживания клеток mNFS60 составляют 32,9 и 9,1 нг/мл соответственно.

1.1.1.2. Ниволумаб.

Иммунотерапия злокачественных новообразований основывается на предположении, что опухоли могут распознаваться в качестве чужеродных объектов, а не собственных тканей, и они могут быть эффективно атакованы активированной иммунной системой. Считают, что в этих условиях эффективный иммунный ответ будет основан на иммунном надзоре опухолевых антигенов, экспрессирующихся на злокачественных клетках, что, в конечном итоге, приводит к адаптивному иммунному ответу и гибели злокачественных клеток. При этом прогрессирование опухоли может зависеть от приобретения признаков, позволяющих злокачественным клеткам избегать иммунного надзора и эффективного врожденного и адаптивного иммунных ответов (Dunn, 2002; Jemal, 2011; Pardoll, 2003; Zitvogel, 2006). В настоящее время усилия в отношении иммунотерапии направлены на преодоление выраженной толерантности иммунной системы к опухолевым клеткам и антигенам посредством введения антигенов злокачественных опухолей с помощью терапевтической вакцинации или посредством модуляции регуляторных контрольных точек иммунной системы.

Стимуляция Т-клеток является сложным процессом, включающим интеграцию многочисленных положительных, а также отрицательных костимуляторных сигналов в дополнение к распознаванию антигенов Т-клеточным рецептором (TCR) (Greenwald, 2004). В совокупности, эти сигналы регулируют баланс между активацией Т-клеток и толерантностью. Показано, что передача сигнала PD-1 ингибирует CD28-опосредованную положительную регуляцию ИЛ-2, ИЛ-10, ИЛ-13, интерферона гамма (ИФН γ) и V α 1-xL. Также показано, что передача сигнала PD-1 ингибирует активацию Т-клеток и экспансию ранее активированных клеток. Доказательства отрицательной регуляторной роли PD-1 получены в исследованиях на мышцах с дефицитом PD-1, у которых развиваются различные аутоиммунные фенотипы (Shagre, 2007). Эти результаты позволяют предполагать, что блокада PD-1 обладает потенциалом к стимуляции аутореактивных Т-клеточных ответов, но эти ответы являются переменчивыми и зависят от различных генетических факторов организма-хозяина. Таким образом, дефицит или ингибирование PD-1 не сопровождается общей утратой толерантности к аутоантигенам.

In vitro ниволумаб связывается с PD-1 с высокой аффинностью (EC_{50} 0,39-2,62 нМ) и ингибирует связывание PD-1 с его лигандами, PD-L1 и PD-L2 (IC_{50} 1 нМ). Ниволумаб специфически связывается с PD-1 и не связывается с родственными членами семействами CD28, такими как CD28, ICOS, CTLA-4 и BTLA. Блокада пути PD-1 ниволумабом приводит к воспроизводимому усилению пролиферации и высвобождения ИФН γ в реакции смешанной культуры лимфоцитов (MLR). При использовании анализа повторной стимуляции цитомегаловирусом (CMV) с использованием мононуклеарных клеток перифери-

ческой крови человека (РВМС) эффект ниволумаба в отношении антиген-специфического вторичного ответа свидетельствует об усиленной ниволумабом секреции ИФН γ CMV-специфическими Т-клетками памяти дозозависимым образом по сравнению с совпадающим по изотипу контролем. Блокада PD-1 *in vivo* мышинным аналогом ниволумаба усиливает противоопухолевый иммунный ответ и приводит к отторжению опухоли в нескольких моделях опухолей иммунокомпетентных мышей (MC38, SA1/N и PAN02) (Wolchok, 2009).

1.7.2. Краткие доклинические данные.

1.7.2.1. HuAB1.

Способность *cm*HuAB1 ингибировать рост злокачественного новообразования *in vivo* исследовали на модели рака толстого кишечника MC38 у иммунокомпетентных мышей. Эти мышей выбирали, чтобы сделать возможным установление интактного взаимодействия опухоли и иммунной системы. Введение *cm*HuAB1 начинали, когда опухоли достигали размера приблизительно 100 мм³. Мышам один раз в неделю проводили интраперитонеальную инъекцию *cm*HuAB1 в дозе 30 мг/кг и рост опухоли сравнивали с мышами, которым вводили только альбумин. *cm*HuAB1, значительно снижало рост опухолей MC38 по сравнению с мышами, которым вводили контроль. Анализ проточной цитометрии контрольных мышей показал, что в CD11b⁺ миелоидном компартменте опухолей MC38 преобладают CD206⁺ макрофаги. CD206 является маркером иммуносупрессорных макрофагов M2. Эти CD206⁺ иммуносупрессорные макрофаги M2 значительно снижаются после введения *cm*HuAB1. Снижение макрофагов M2 сопровождается повышением CD8⁺ цитотоксических Т-клетки относительно всех CD4⁺ Т-клеток или регуляторных Т-клеток, определяемых как CD4⁺CD25^{high} клетки. Эти данные позволяют предполагать, что снижение иммуносупрессорных макрофагов *cm*HuAB1 приводит к сдвигу в сторону более высокого ответа цитотоксических Т-клеток в опухоли.

Профиль PK HuAB1 сложен и отличается нелинейным выведением, вероятно, опосредованным, связыванием с CSF1R на клетках. Т.к. жизнеспособность моноцитов и макрофагов зависит от CSF1R, количество этих несущих мишень клеток снижается после введения HuAB1, что приводит к снижению опосредуемого мишенью выведения. Т.к. опосредуемое мишенью выведение насыщается при высоких или повторных дозах, выведение HuAB1 схоже с другими антителами IgG человека.

Три биомаркера PD коррелируют с воздействием HuAB1 в неклинических исследованиях: уровни CSF1 в сыворотке, циркуляция CD16-положительных моноцитов периферической крови (CD16⁺ моноцитов) и сывороточных маркеров резорбции кости (Trap5b и CTX). Уровни CSF1 в сыворотке быстро повышаются и уровни CD16⁺ моноцитов быстро снижают дозозависимым образом, точно коррелирующим с концентрацией HuAB1 в плазме. Насыщения ответа PD достигают при низкой дозе huAB1 (3 мг/кг ежедневно) у яванских макаков. Полумаксимальный ответ (IC₅₀) в случае снижения CD16⁺ моноцитов развивается при концентрации в сыворотке приблизительно 3 мкг/мл, и максимальный ответ развивается при приблизительно 10 мкг/мл. Уровень CD16-отрицательных (CD16⁻) моноцитов не изменяется при воздействии HuAB1.

В токсикологических исследованиях *in vivo* на яванских макаках HuAB1, как правило, хорошо переносился. Данные, связанные с исследуемым препаратом, включали клинические наблюдения, изменения показателей гематологических анализов и клинической биохимии и гистопатологические изменения.

Большинство этих наблюдений не считали неблагоприятными. Наиболее значительным клиническим наблюдением являлся обратимый периорбитальный отек, наблюдаемый после длительного воздействия HuAB1. Возникновение отека не имело четкой взаимосвязи с уровнями воздействия, но отек разрешался после системного выведения лекарственного средства. Периорбитальный отек является известным побочным эффектом лекарственных средств, влияющих на путь CSF1 (Cassier, 2014; Ries, 2014). Основным гематологическим изменением являлось обратимое снижение циркулирующих CD16⁺ моноцитов, считающееся PD эффектом. Связанные с HuAB1 эффекты в отношении клинической биохимии включали обратимое повышение уровней АЛТ, АСТ, СК и LDH в сыворотке. Эти отклонения лабораторных показателей не связаны с каким-либо гистопатологическим доказательством повреждения печени, сердца или мышц. Кроме того, не наблюдали каких-либо изменений сердечного тропонина, тропонина скелетных мышц (SkTnI), миоглобина и альдолазы, что дополнительно подтверждает отсутствие какого-либо повреждения печени или мышц. Повышенные уровни в сыворотке приписывают снижению выведению молекул АЛТ, АСТ, СК и LDH из сыворотки по причине снижения количества купферовских клеток печени (Radi, 2011). Таким образом, повышение АЛТ, АСТ, СК и LDH считают нетоксичным и косвенным PD эффектом воздействия HuAB1.

Примечательным гистопатологическим результатом являлось обратимое расширение подслизистых волокон коллагена с увеличением расстояния между ними и различные количества синего, гранулярного внеклеточного матрикса (ECM) во множестве тканей. Это изменение не было ассоциировано ни с воспалительными клетками, ни с каким-либо признаком дегенерации или другого изменения волокон коллагена, фибробластов или гладкомышечных клеток в области расширения. Схожие результаты также наблюдали у мышей ор/ор, у которых отсутствует функциональный CSF1. Снижение тканевых макрофагов, вероятно, является причиной наблюдаемого накопления ECM в результате сниженного выведения гликозаминогликанов, особенно гиалуроновой кислоты, в значительном количестве присутствующих в соеди-

нительной ткани и в норме катаболизируемых макрофагами (Radi, 2009). Это изменение также считают косвенным PD эффектом NuAB1.

Сердечный тропонин I находился ниже предела количественного определения (LOQ) во всех образцах, за исключением одной самки обезьяны в группе, которой вводили 150 мг/кг, в день 28. У этого животного обнаруживали соответствующие микроскопические изменения в сердце. Хотя повышение сердечного тропонина I очень характерно для повреждения миокарда, уровень, определяемый у этой обезьяны (0,26 нг/мл), незначительно превышал LOQ анализа (0,20 нг/мл) и был значительно ниже ожидаемого для побочных эффектов в отношении миокарда.

Определяли уровень отсутствия наблюдаемых побочных эффектов (NOAEL) NuAB1 100 мг/кг при введении яванским макаком в виде 13 еженедельных доз, что представляет собой 32-кратный коэффициент безопасности на основе вычисления площади поверхности тела для начальной дозы 1 мг/кг у людей.

Минимальный уровень ожидаемого биологического эффекта (MABEL) оценивали для определения начальной дозы на здоровых добровольцах в исследовании, впервые проведенном на людях. Маркерами PD, идентифицированными как типичный признак биологического эффекта, являлись изменения уровня CD16⁺ моноцитов, повышение CSF1 в плазме и повышение АЛТ, АСТ, СК и LDH в сыворотке. Наименьшая концентрация NuAB1 в плазме, при которой биологический эффект развивался в случае каждого маркера, находилась в диапазоне от 5 мкг/мл до 105 мкг/мл, и дозу NuAB1, соответствующую 5 мкг/мл при максимальной концентрации в сыворотке (C_{max}), оценивали как 0,2 мг/кг, рекомендуемую начальную дозу у здоровых добровольцев.

1.1.2.2. Ниволумаб.

Показано, что ниволумаб специфически связывается с рецептором человек PD-1 и не связывается с родственными членами семейства CD28, такими как ICOS, CTLA-4 и BTLA (IB ниволумаба, 2014). Ниволумаб ингибирует взаимодействие PD-1 с его лигандами, PD-L1 и PD-L2, что приводит к повышенной пролиферации Т-клеток и высвобождению ИФН γ *in vitro* (Velu, 2009; IB ниволумаба, 2014). Посредством анализа активируемой флуоресценцией сортировки клеток (FACS) подтверждали, что ниволумаб связывается с трансфицированными клетками яичника китайского хомяка (CHO) и активированными Т-клетками человека, экспрессирующими PD-1 поверхности клетки, и с PD-1 яванского макака, но не с молекулами PD-1 крысы или кролика. Также показано, что ниволумаб связывается с PD-1 на вирусспецифических CD8⁺ Т-клетках пациентов, хронически инфицированных вирусом гепатита С (Kaufmann, 2008; Rutebemberwa, 2008).

Ингибирование PD-1 при MLR приводило к воспроизводимому зависящему от концентрации повышению высвобождения ИФН γ в MLR до 50 мкг/мл. Не наблюдали эффект при использовании изотипического контроля IgG4 человека или контрольных CD4⁺ Т-клеток и дендритных клеток (DC) (Wang, 2014).

В токсикологических исследованиях внутривенных (IV) повторных доз у яванских макаков ниволумаб хорошо переносился в дозах до 50 мг/кг, вводимых еженедельно в течение 5 недель, и в дозах до 50 мг/кг, вводимых дважды в неделю за 27 доз. Связанные с ниволумабом результаты ограничивались обратимым снижением триодтиронина до 28% (T_3) среди самок, которым вводили 27 доз 50 мг/кг ниволумаба. Не наблюдали соответствующих изменений уровня тироксина (T_4), тиреотропного гормона (TSH) или гистологических изменений в щитовидной железе. Хотя ниволумаб в отдельности хорошо переносился яванскими макаками, в исследованиях комбинаций выявили потенциальную повышенную токсичность при комбинировании с другими иммуностимулирующими средствами (IB ниволумаба, 2014).

Ипилимумаб (BMS-734016), моноклональное антитело (mAb) против CTLA-4, блокирующее отрицательную регуляцию активации Т-клеток, использовали в комбинации с ниволумабом для исследования эффектов одновременного ингибирования рецепторов PD-1 и CTLA-4 у не являющихся человеком приматов (IB ниволумаба, 2014). Хотя не наблюдали желудочно-кишечную (GI) токсичность у яванских макаков, которым вводили ниволумаб в отдельности, дозозависимая GI токсичность была очевидной у яванских макаков, которым еженедельно в течение 4 недель вводили комбинацию ниволумаб+ипилимумаб в комбинациях 10 и 3 мг/кг и 50 и 10 мг/кг соответственно. Также наблюдали GI эффекты с низкой частотой после введения ипилимумаба (IB ниволумаба).

Кроме того, осуществляли исследование усиленного пре- и постнатального развития (ePPND) на беременных яванских макаках с использованием ниволумаба (IB ниволумаба, 2014). Введение ниволумаба в дозе до 50 мг/кг каждые 2 недели хорошо переносилось беременными обезьянами; однако определяли, что ниволумаб является селективным эмбриотоксичным веществом при введении с периода органогенеза до родов в дозе >10 мг/кг (площадь под кривой концентрация-время [AUC] от 0 до 168 ч [AUC (0-168 ч)] 117000 мкг·ч/мл). В частности, отмечали повышенную смертность при эмбриональном развитии (включая позднюю гестационную потерю плода и крайнюю недоношенность с сопутствующей неонатальной смертностью) в отсутствие очевидной токсичности для матери. Не наблюдали связанных с ниволумабом изменений у выживших новорожденных, тестируемых на всем протяжении 6-месячного постнатального периода. Хотя причину этих патологий беременности не определяли, связанные с ниво-

лумабом эффекты в отношении сохранения беременности соответствуют установленной роли PD-L1 в поддержании фетоматеринской толерантности у детей (Habicht, 2007).

1.7.3. Краткие клинические данные.

1.7.3.1. НуАВ1.

1.7.3.1.1. Краткие данные текущего исследования НуАВ1.

НуАВ1 в настоящее время оценивают в двойном слепом, рандомизированном, плацебо-контролируемом исследовании, впервые проведенном на людях, запланированном в 3 частях для исследования безопасности, РК и PD на здоровых добровольцах и пациентах с РА. Первые две части исследования осуществляли и завершали на здоровых добровольцах. В части 18 здоровых добровольцев рандомизировали (3:1) для проведения однократной IV инфузии НуАВ1 или плацебо в когортах доз 0,2, 1, 3 или 10 мг/кг. В части 28 здоровых добровольцев рандомизировали (3:1) для введения 2 доз НуАВ1 или плацебо, вводимых с интервалом 14 дней, 1 мг/кг или 3 мг/кг. В части 3 исследования будут оценивать НуАВ1 у пациентов с РА и его проводят в настоящее время. Данные для частей 1 и 2 приведены ниже.

1.7.3.1.2. Краткие данные о клинической фармакологии НуАВ1.

РК НуАВ1 оценивали посредством измерения системных уровней лекарственного средства с течением времени у всех 36 индивидуумов, которым вводили НуАВ1 в частях 1 и 2. Образцы крови для определения концентраций НуАВ1 в сыворотке собирали перед введением дозы и в различные временные точки до 112 дней (в случае части 1) или 98 дней (в случае части 2) после введения первой дозы. Кроме того, образцы крови для определения антител против НуАВ1 собирали перед введением дозы и в различные временные точки со дня 15 до дня 85 (в случае части 1) или со дня 15 до дня 99 (в случае части 2).

После одного введения НуАВ1 в дозе 0,2, 1, 3 и 10 мг/кг общее выведение снижалось с повышением дозы и находилось в диапазоне от 38,7 до 2,55 мл/день/кг. Общее выведение 2,55 мл/день/кг при дозе 10 мг/кг попадает в диапазон для типичного моноклонального антитела IgG человека. C_{max} повышалась пропорционально дозе, но AUC - нет. После 2 доз, вводимых с интервалом 14 дней, не наблюдали накопление при дозе 1 мг/кг. Однако если дозу повышали до 3 мг/кг, наблюдали среднее 1,60-кратное накопление лекарственного средства между первой и второй дозой в случае AUC со дня 1 до дня 15, в то время как минимальное накопление наблюдали в случае C_{max} при том же уровне дозы. Полученные данные РК позволяли предполагать, что CSF1R экспрессировался на линии моноцитов/макрофагов и других типах клеток, участвующих в опосредованном мишенью выведении НуАВ1. Т.к. жизнеспособность моноцитов и макрофагов зависит от CSF1R, количество этих несущих мишенью клеток снижалось после введения НуАВ1, что приводит к снижению опосредованного мишенью выведения. Т.к. опосредуемое мишенью выведение насыщается при высоких или повторных дозах, выведение НуАВ1 схоже с другими антителами IgG человека.

Иммуногенность НуАВ1 оценивали с использованием валидированного электрохемилуминесцентного анализа (ECLA), в котором измеряли общие антитела против НуАВ1 в сыворотке. Предел чувствительности анализа составлял 39,1 нг/мл. Три индивидуума в когорте 2 (однократная доза 1 мг/кг) имели следы положительных титров антител, что представляет собой частоту 8,3% (3 из 36 индивидуумов, которым вводили НуАВ1). Следы положительных титров антител впервые наблюдали в день 15 у 2 индивидуумов и в день 57 у 1 индивидуума. У двух индивидуумов все еще наблюдали ADA-положительные титры в день 85 (последняя тестируемая временная точка). Наличие ADA имело незначительно влияние на воздействие НуАВ1, при его наличии, по сравнению с индивидуумами без ADA в когорте той же дозы, и не наблюдали связанных клинических осложнений с учетом доступных данных.

Введение НуАВ1 индуцировало дозозависимое снижение неклассических CD16+ моноцитов как маркера PD в случае введения НуАВ1. Анализировали взаимосвязь между концентрацией НуАВ1 в сыворотке и снижением неклассических CD16+ моноцитов и обнаруживали, что она зависит от концентрации с учетом данных, собранных через 72 ч после введения до конца исследования. При >5 мг/мл НуАВ1 в сыворотке отмечали максимальное снижение неклассических CD16+ моноцитов. Таким образом, ожидают, что доза для достижения остаточной концентрации в сыворотке при >5 мг/мл у большинства пациентов будет целевой дозой для максимального снижения неклассических CD16+ моноцитов. Остается исследовать оптимальное воздействие, необходимое для достижения клинической эффективности, в клинических испытаниях с использованием НуАВ1 на пациентов.

В совокупности, НуАВ1 проявлял нелинейное выведение в тестируемом диапазоне доз. Характеристики РК, наблюдаемые у здоровых добровольцев, подтверждают правильность введения НуАВ1 раз каждые 2 недели или реже для поддержания желаемого воздействия лекарственного средства.

1.7.3.1.3. Краткие данные о клинической безопасности НуАВ1.

Общее количество индивидуумов, которым вводили НуАВ1, составляло 36 в части 1 и части 2 при 6 индивидуумах в когорте каждой дозы. Решение о повышении дозы основано на частоте DLT и приписываемых АЕ за пределами периода DLT.

НуАВ1 хорошо переносилось здоровыми добровольцами при многократных дозах до 3 мг/кг. Наиболее распространенными проявлениями связанной с лечением НуАВ1 токсичности являлись зуд, отек век вместе с отеком лица, утомляемость и головная боль. Эффекты имели степень 1 или 2 и были самоограниченными. Профиль АЕ схож с таковым для других соединений, воздействующих на путь CSF1R

(Cassier, 2014). При 10 мг/кг все 6 активных индивидуумов испытывали умеренный (степени 2) отек век или отек лица, иногда сопровождаемый отеком кистей и ступней, неясным зрением и повышением массы тела. Эффекты длились до 3 месяцев и совпадали с длительным воздействием huAB1 при этом уровне доз.

HuAB1 демонстрировал повышение ферментов печени, достигая пика через 2-8 недель после введения лекарственного средства и возвращаясь к нормальному через 12 недель после прекращения введения лекарственного средства. Отмечали дозозависимое повышение СК до 6,8 раз выше верхнего предела нормы (ULN) и LDH до 3,2 раз выше ULN при 1 мг/кг и выше; повышение АСТ до 2,4 раз выше ULN при 3 мг/кг и выше, и оно возникало у большей доли здоровых добровольцев с повышением дозы; и слабое повышение АЛТ до 1,2 раз выше ULN возникало при 10 мг/кг у 1 индивидуума. Эти повышения, в большей степени, считали результатом механизма действия HuAB1-опосредованного ингибирования купферовских клеток, а не недостаточности или повреждения какого-либо органа, и их не считали клинически значимыми. huAB1 исходно тестировали на здоровых добровольцах в дозе 1 мг/кг и 3 мг/кг массы тела. При 1 мг/кг 7 индивидуумам вводили однократную дозу, 5 индивидуумам вводили 2 дозы с 14-дневными интервалами и подвергали их последующему обследованию в пределах 28-дневного окна DLT. В группе здоровых добровольцев, которым вводили 3 мг/кг, 10 индивидуумам вводили однократную дозу, 2 индивидуумам вводили 2 дозы с интервалом 14 дней и подвергали их последующему обследованию на DLT. Только у 1 индивидуума в когорте 3 мг/кг наблюдали сопутствующее повышение щелочной фосфатазы и АСТ степени 1.

1.7.3.2. Ниволумаб.

1.7.3.2.1. Краткие данные о клинической фармакологии ниволумаба.

PK однократной дозы ниволумаба оценивали на пациентах с множеством типов опухолей в CA209001, в то время как PK многократных доз оценивают у пациентов в CA209003. Кроме того, разрабатывали предварительную модель фармакокинетики выборки (PPK) с использованием данных 350 пациентов из CA209001, CA209002 и CA209003.

PK ниволумаба исследовали на пациентах в диапазоне доз от 0,1 до 20 мг/кг, вводимых в виде однократной дозы или многократных доз каждые 2 или 3 недели. С учетом анализа PPK с использованием данных 909 пациентов, выведение (CL) (CV%) составляет 9,5 мл/ч (49,7%), геометрическое среднее объема распределения в равновесном состоянии (V_{ss}) составляет 8,0 л (30,4%), и геометрическое среднее периода полувыведения ($t_{1/2}$) составляет 26,7 дней (101%). Концентраций ниволумаба в равновесном состоянии достигали через 12 недель при введении в дозе 3 мг/кг каждые 2 недели, и системное накопление являлось приблизительно 3-кратным. Воздействие повышенной дозы ниволумаба являлось пропорциональным в диапазоне доз от 0,1 до 10 мг/кг, вводимых каждые 2 недели (вкладыш в упаковку Opdivo, 2015).

Учитывая анализ PK выборки с использованием данных 909 пациентов, выведение ниволумаба повышалось с повышением массы тела, что подтверждает правильность расчета дозы на основе массы. Анализ PK выборки позволяет предполагать, что следующие факторы не имели клинически значимого эффекта в отношении выведения ниволумаба: возраст (от 29 до 87 лет), пол, раса, исходная LDH, экспрессия PD-L1, тип опухоли, размер опухоли, почечная недостаточность и слабая печеночная недостаточность (вкладыш в упаковку Opdivo, 2015).

1.7.3.2.2. Краткие данные о безопасности ниволумаба.

В целом, профиль безопасности монотерапии ниволумабом, а также комбинированного лечения поддается контролю и, как правило, согласуется в завершенных и текущих клинических испытаниях без достижения MTD при любой тестируемой дозе до 10 мг/кг. Не наблюдали взаимосвязи в частоте, тяжести или причине АЕ с уровнем дозы ниволумаба. Большинство АЕ имели низкую степень (степени 1-2), при этом относительно мало связанных АЕ имели высокую степень (степени 3-4). Большинство эффектов высокой степени поддавались контролю с использованием кортикостероидов или гормонозаместительной терапии (эндокринопатии), как указано в алгоритмах регуляции, представленных в IB ниволумаба (IB ниволумаба, 2014).

Всего 39 и 306 пациентов с выбранными рецидивирующими или рефрактерными к лечению злокачественными новообразованиями лечили в завершенном исследовании однократной дозой фазы 1 (CA209001) и в текущем исследовании многократными дозами фазы 1 (CA209003) соответственно. Т.к. профиль безопасности CA209003 к настоящему времени соответствует наблюдаемому в CA209001, ниже представлены только данные более крупного и более позднего исследования, CA209003.

В CA209003 (n=306, включая 129 пациентов с NSCLC), как указано в закрытой базе данных на 05 марта 2013 г., связанные с лекарственным средством АЕ любой степени возникали у 75% пациентов. Наиболее частые связанные с лекарственным средством АЕ, возникающие по меньшей мере у 5% пациентов, включали утомляемость (28%), сыпь (15%), диарею (13%), зуд (11%), тошноту (9%), снижение аппетита (9%), снижение гемоглобина (6%) и пирексию (6%). Большинство эффектов имели низкую степень АЕ, при этом связанные с лекарственным средством АЕ степени 3/4 наблюдали у 17% пациентов. Наиболее распространенными связанными с лекарственным средством АЕ степени 3/4, возникающими по меньшей мере у 1% пациентов, являлись утомляемость (2%), пневмонит (1%), диарея (1%), боль в

животе (1%), гипофосфатемия (1%) и лимфопения (1%). Связанные с лекарственным средством SAE возникали у 14% пациентов; 8% являлись АЕ степени 3/4, включая пневмонит (1%) и диарею (1%). Спектр, частота и тяжесть связанных с лекарственным средством АЕ, как правило, являлись схожими при тестируемых уровнях доз. При рассмотрении данных о безопасности по типу опухоли (RCC, NSCLC, метастазирующий кастрационно-резистентный рак предстательной железы [mCRPC], колоректальный рак [CRC] и меланома) также не выявляли каких-либо клинически значимых различий у части пациентов с АЕ, отмеченными по типу опухоли.

Выбранные АЕ с потенциальной связанной с иммунитетом причиной, ранее обозначаемые как "связанные с иммунитетом побочные эффекты" или "особенно интересующие побочные эффекты", также анализировали с учетом множества эффектов со степенями, скорректированными по длительности лечения. Большинство эффектов возникало в течение первых 6 месяцев терапии; не наблюдали кумулятивные или новые токсичности при длительном воздействии лекарственного средства. Девятнадцать из 306 пациентов (6%) испытывали связанные с лечением выбранные АЕ степени 3/4. В случае пятидесяти двух из 230 пациентов (23%) со связанными с лекарственным средством АЕ потребовалось лечение системными глюкокортикоидами и/или другими иммуносупрессивными средствами. Двадцать один из 52 (40%) возобновил терапию ниволумабом после разрешения токсичности, в то время как другие прекращали терапию.

Хотя прогрессирование опухоли являлось наиболее распространенной причиной смерти, было 3 связанных с лекарственным средством смерти, ассоциированных с пневмонитом степени 3/4. Пневмонит (любой степени) возник у 12 из 306 пациентов (4%), и пневмонит степени 3/4 возник у 4 пациентов (1%) с клиническими проявлениями в диапазоне от бессимптомных рентгенологических отклонений до прогрессирующих, диффузных инфильтратов легких, сопровождающихся кашлем, повышением температуры и/или одышкой. Не отмечали четкой взаимосвязи между возникновением пневмонита и типом опухоли, уровнем дозы или длительностью лечения. У 9 из 12 пациентов пневмонит являлся обратимым после прерывания лечения и/или при использовании иммуносупрессивной терапии (глюкокортикоиды, инфликсимаб, микофенолат).

Дополнительные подробности в отношении профиля безопасности ниволумаба, включая результаты других клинических исследований, также доступны в IB и вкладыше в упаковку (IB ниволумаба, 2014; вкладыш в упаковку Opdivo, 2015).

1.8. Общая оценка соотношения риск-польза.

Ряд лекарственных средств-кандидатов, направленно воздействующих на путь CSF1R, исследовали в клинических условиях. Они включают антитела, блокирующие связывание лигандов-агонистов с CSF1R или ингибирующие димеризацию CSF1R, а также низкомолекулярные соединения, блокирующие киназную активность CSF1R. Исследовали безопасность, PK и PD PD-0360324, антитела против CSF1, на здоровых добровольцах (Sadis, 2009). Наиболее значимые появившиеся за время лечения результаты (повышенные уровни ферментов печени) и АЕ (т.е. периорбитальный отек), наблюдаемые при лечении PD-0360324, согласуются с данными, полученными к настоящему времени при использовании HuAB1.

Клиническое исследование RG7155 (антитела против димеризации CSF1R) включало пациентов с гигантоклеточными опухолями диффузного типа (Dt-GCT). У всех семи оцениваемых пациентов наблюдали частичный метаболический ответ при визуализации посредством FDG-PET (в соответствии с требованиями European Organisation for Research and Treatment of Cancer), при этом два пациента приблизились к полному метаболическому ответу. У пяти из семи пациентов достигали частичных ответов при первой оценке. Как и в случае других средств, воздействующих на путь CSF1R, периорбитальный отек являлся наиболее распространенным АЕ (Ries, 2014).

CSF1 является основным фактором выживания TAM, и направленное воздействие на CSF1R с помощью HuAB1 должно снижать TAM-опосредованную иммуносупрессию, что приводит к усилению противоопухолевого ответа на иммунотерапию. Ингибирование CSF1R с помощью HuAB1 должно ограничивать влияние TAM на микроокружение опухоли и дополнять и усиливать существующие способы терапии злокачественных новообразований.

Ниволумаб продемонстрировал клиническую активность в случае нескольких типов опухолей, в частности меланомы и NSCLC, для которых уже получено одобрение FDA. Ниволумаб также продемонстрировал поддающийся контролю профиль безопасности. Наиболее распространенные АЕ включали утомляемость, сыпь, зуд, диарею и тошноту.

Предварительные отчеты о специфических ингибиторах CSF1R позволяют предполагать, что HuAB1 может представлять собой полезное лекарственное средство для пациентов с солидными опухолями. Устойчивая клиническая активность, продемонстрированная ниволумабом у пациентов с меланомой, NSCLC и RCC на поздних стадиях в комбинации с поддающимся контролю профилем безопасности, подтверждает правильность дальнейшей разработки этого лекарственного средства на пациентах со злокачественными новообразованиями на поздних стадиях.

Учитывая доступные данные о клинической безопасности, токсичности huAB1 и ниволумаба не перекрываются (за исключением повышения ферментов печени, обсуждаемого ниже), и, таким образом, не ожидают развития кумулятивных токсичностей по причине этой комбинации. HuAB1 ассоциировано с

периорбитальным отеком, и наблюдали только один случай периферического отека при использовании ниволумаба. Кроме того, ниволумаб ассоциирован со связанными с иммунитетом АЕ, и к настоящему времени не наблюдали связанных с иммунитетом АЕ при использовании НuAB1.

Наблюдали временное повышение ферментов печени (СК, АСТ, АЛТ и LDH) у пациентов, которым вводили НuAB1, по причине снижения количества купферовских клеток, и это не связано с какими-либо гистопатологическими доказательствами повреждения ткани печени, сердца или скелетных мышц. Известно, что ниволумаб вызывает печеночные токсичности с низкой частотой. Из-за того что комбинация нuAB1 и ниволумаба потенциально может приводить к повышению ферментов печени в результате действия различных основополагающих механизмов, разработаны руководства по снижению рисков для быстрой детекции и соответствующего ответа на какие-либо признаки нарушений печени в течение этого исследования (приложение E).

В медицине сохраняется неудовлетворенная потребность в средствах для лечения пациентов со злокачественными новообразованиями. Учитывая надежные неклинические и клинические данные, говорящие в пользу этих двух молекул, избыточные, иммунологические механизмы действия и совокупность существующих данных о безопасности многих клинических исследований, логическая комбинация этих двух лекарственных средств может быть полезной для пациентов со злокачественным новообразованием, нуждающихся в расширенных вариантах терапии.

2. План исследования.

2.1. Дизайн и длительность исследования.

Это исследование является открытым, многоцентровым исследованием фазы 1a и 1b с фазой повышения дозы и фазой расширения количества пациентов, которых лечили максимально переносимой дозой, для оценки безопасности, переносимости, PK и PD НuAB1 в качестве монотерапии и в комбинации с ниволумабом у пациентов с выбранными злокачественными новообразованиями на поздних стадиях. НuAB1 является гуманизированным моноклональным антителом против CSF1R, и ниволумаб является полностью человеческим моноклональным антителом против PD-1. Для исследования комбинации НuAB1 и ниволумаб будут вводить в день 1 каждого 14-дневного цикла лечения; ниволумаб будут вводить первым в виде IV инфузии в течение 30 мин с 30-минутным интервалом между 2 инфузиями с последующей 30-минутной IV инфузией НuAB1.

Исследование будет включать фазу 1a повышения дозы и фазу 1b расширения количества пациентов, которых лечили максимально переносимой дозой. Фаза 1a состоит из двух референсных когорт монотерапии НuAB1 (1aM1 и 1aM2) и трех когорт с повышением доз НuAB1 в комбинации с ниволумабом (1aC1, 1aC2, и 1aC3). Фаза 1b состоит из восьми когорт (1b1-1b8) с шестью типами злокачественных новообразований. Пациентов будут включать в исследования фазы 1aM, 1aC или фазы 1b, но не в две или все три. Схема исследования представлена на фиг. 6.

Исследование будет состоять из 3 периодов, включая скрининг (до 28 дней), лечение и последующее обследование/последующее обследование на выживаемость.

2.2.2. Период скрининга.

Все скрининговые оценки должен завершать и рассматривать исследователь, следуя Справочному руководству по проведению исследования по включению в исследование для подтверждения того, что пациенты соответствуют всем критериям выбора до первой инфузии исследуемого лекарственного средства. Письменное информированное согласие для участия в исследовании необходимо получать перед осуществлением каких-либо исследовательских скрининговых тестов или способов, не считающихся стандартами лечения. Скрининговые оценки будут осуществлять в течение 28 дней перед введением первой дозы исследуемого лекарственного средства, если не указано иначе.

В течение этого периода будут регистрировать связанные с исследованием АЕ, возникающие после подписания ICF и до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства.

2.1.2. Период лечения.

2.1.2.1. Когорты монотерапии фазы 1a (1aM1 и 1aM2) и когорты повышения дозы комбинации (1aC1, 1aC2 и 1aC3).

Фаза 1a состоит из двух референсных когорт монотерапии НuAB1 и трех когорт с повышением дозы НuAB1 в комбинации с ниволумабом минимум с 3 пациентами, включенными в каждую когорту. Запланированные уровни доз и схемы для когорт фазы 1a являлись следующими:

- когорты 1aM1: 2 мг/кг НuAB1, q2w,
- когорты 1aM2: 4 мг/кг НuAB1, q2w,
- когорты 1aC1: 1 мг/кг НuAB1+3 мг/кг ниволумаба, q2w,
- когорты 1aC2: 2 мг/кг НuAB1+3 мг/кг ниволумаба, q2w,
- когорты 1aC3: 4 мг/кг НuAB1+3 мг/кг ниволумаба, q2w.

Исследование в когорте монотерапии 2 мг/кг НuAB1 (1aM1) и когорты комбинации 1 мг/кг НuAB1+ниволумаб (1aC1) будет параллельно начинать с последовательным порядком включения, следуя дизайну 3+3, начиная с когорты монотерапии 1aM1. Пациентов в этих когортах будут лечить всего в течение двух 14-дневных циклов лечения в пределах 28-дневного периода DLT.

Исследование в когорте монотерапии 4 мг/кг НuAB1 (1aM2) будут начинать после завершения пе-

риода DLT в когорте монотерапии 2 мг/кг HuAB1 (1aM1); исследование в когорте комбинации 2 мг/кг HuAB1/ниволумаба будут начинать только после завершения периодов DLT в когортах комбинации HuAB1/ниволумаба 1aC1 и монотерапии 1aM1 HuAB1. Исследование в когорте комбинации 4 мг/кг HuAB1/ниволумаба (1aC3) будут начинать только после завершения периодов DLT в когортах комбинации HuAB1/ниволумаба 1aC2 и монотерапии HuAB1 1aM2. В зависимости от исхода в когорте монотерапии 4 мг/кг HuAB1 можно начинать исследование в когортах более высоких или более низких промежуточных доз для монотерапии и комбинированного лечения (например, 3 мг/кг HuAB1 в отдельности или в комбинации с ниволумабом) по решению Комитета по рассмотрению когорт. Все решения о повышении дозы будут основаны на оценке DLT, общей безопасности и переносимости. Решения о повышении дозы будут согласовываться исследователями и спонсором. Перед началом введения каждого нового уровня доз или расширения существующего уровня доз будут проводить телеконференцию на тему безопасности, где исследователи и спонсор будут рассматривать данные пациентов, включая в качестве неограничивающих примеров демографические данные, дозировку лекарственных средств, сопутствующую медикаментозную терапию, гематологический анализ и химический анализ сыворотки и АЕ; и предоставлять и документировать согласие о том, что повышение дозы или расширение существующего уровня дозы считают уместным. Если исследователи и спонсор, в целом, согласны, это будет разрешено после рассмотрения данных о безопасности, РК и PD и того, что необходимо использовать другую схему повышения дозы (например, промежуточную дозу HuAB1 3 мг/кг в отдельности или в комбинации с ниволумабом), а не намеченную схему. При рассмотрении параметров безопасности РК и PD можно принимать решение о добавлении когорт с альтернативными уровнями доз или схемами дозирования (например, менее частое введение) для достижения оптимального целевого воздействия.

Оценку DLT и включение в исследование будут осуществлять, следуя руководству, приведенному табл. 2 ниже.

Таблица 2

Алгоритм решений о повышении дозы в фазе 1a

Количество пациентов с DLT при указанном уровне доз	Правило принятия решения о повышении дозы
0/3	Повышение будут осуществлять в следующей когорте наиболее высокой дозы
1/3	Включение еще трех пациентов в ту же когорту
≥2/3	Прекращение включения в исследование. Включение еще трех пациентов при более низком уровне доз, если ранее включали только трех
1/6	Начало исследования в следующей когорте
≥2/6	Прекращение включения в исследование. Включение еще трех пациентов при более низком уровне доз, если ранее включали только трех

Повышение дозы будут продолжать в группах монотерапии и комбинированного лечения до достижения MTD или максимальной запланированной дозы HuAB1 при включении минимум 3 пациентов в каждую когорту.

MTD определяют как наиболее высокую дозу, ассоциированную с DLT у менее чем 33% пациентов (менее 2 из 6 пациентов), которым вводили HuAB1 или комбинацию HuAB1+ниволумаб, вводимые в течение 28-дневного периода DLT. Как правило, она будет дозой, рекомендуемой для дальнейшего исследования; однако, учитывая данные о безопасности РК и PD, RD можно делать более низкой, чем MTD. Если не достигают MTD и наиболее высокая оцениваемая доза HuAB1 в отдельности или в комбинации с ниволумабом хорошо переносится, данные будут рассматривать для оценки того, оправдано ли дальнейшее повышение доз до 6 мг/кг HuAB1.

Если не достигают MTD в течение фазы повышения дозы комбинации в фазу 1a или в последующих циклах лечения в когортах комбинации завершённой фазы 1a получают дополнительные данные о профиле безопасности, можно выбирать RD с учетом общей переносимости, безопасности РК и PD.

Если пациенту в фазе 1aC не вводят 2 дозы каждого исследуемого лекарственного средства и в от-

ношении него не завершают оценку безопасности (например, оценку лабораторных показателей безопасности и/или регистрацию АЕ) в течение 28-дневного периода DLT по причинам, иным, чем АЕ, связанные с лекарственным средством (например, прогрессирование заболевания или отзыв согласия), то в когорту будут включать дополнительного пациента таким образом, чтобы когорта содержала по меньшей мере трех пациентов, оцениваемых в течение периода DLT. Все такие обсуждения и решения будут задокументированы как часть процесса принятия решения о повышении дозы.

После завершения 28-дневного периода DLT пациенты фазы 1a могут участвовать в расширенном периоде лечения, следуя руководству в разделе 4.1.2.2.

2.2.2.2.2. Дозолимитирующая токсичность.

DLT определяют как связанный с исследуемым лекарственным средством АЕ степени ≥ 3 (с использованием критериев оценки степени тяжести наиболее частых нежелательных явлений [CTCAE] National Cancer Institute [NCI] версии 4.03), возникающий в течение первого 28-дневного периода DLT, за исключением: гиперемии опухоли степени 3 (определяемой по локальной боли, раздражению или сыпи, локализованных в участках известной или предполагаемой опухоли), сыпи степени 3, связанного с иммунитетом побочного эффекта степени 3 (irAE, определенного ниже), разрешающегося до степени 1 или в пределах менее 28 дней, или транзиторного (разрешающегося в пределах 6 часов с момента возникновения) связанного с инфузией АЕ степени 3. irAE определяют как клинически значимый АЕ, ассоциированный с воздействием исследуемого лекарственного средства, неизвестной этиологии и соответствующий иммуноопосредованному механизму.

2.1.2.2. Расширенный период лечения фазы 1a.

После завершения периода DLT пациенты из когорт фазы 1aM и 1aC могут участвовать в расширенном периоде лечения, начинающемся в день 1 цикла 3 (день 29 исследования).

Пациентам из когорт фазы 1aM позволяют продолжать вводить NuAB1 в виде монотерапии на том же уровне дозы NuAB1, и пациентам из когорт фазы 1aC позволяют продолжать вводить NuAB1 в комбинации с ниволумабом на тех же уровнях доз до достижения прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности или другой причины прекращения лечения.

2.1.2.3. Когорты для расширения количества пациентов, которых лечили максимально переносимой дозой, фазы 1b.

Для дальнейшей характеристики безопасности и эффективности NuAB1 в комбинации с ниволумабом в фазу 1b будут включать до 8 когорт для расширения количества пациентов, которых лечили максимально переносимой дозой, с 6 типами злокачественных новообразований на поздних стадиях. Включение в исследование в фазе 1b будут начинать после определения RD Комитетом по рассмотрению когорт с учетом данных об общей безопасности, переносимости, PK и PD.

2.1.3. Период последующего обследования.

В отношении пациентов, прекративших лечение, но демонстрировавших при этом клиническое преимущество (полный ответ [CR], частичный ответ [PR] или стабильное заболевание [SD]), по причинам, иным, чем прогрессирование заболевания, необходимо проводить последующее обследование для оценки опухоли и каких-либо АЕ, связанных с исследуемым лекарственным средством, как указано ниже. Период последующего обследования начинается при посещении для завершения/раннего прекращения лечения.

Посещения для последующего обследования включают следующее (см. полную схему в разделе 6).

Оценки опухоли будут продолжать каждые 12 (± 2) недели.

Рассмотрение связанных с исследуемым лекарственным средством АЕ до разрешения этих АЕ, возвращения к исходному уровню или стабилизации по оценке лечащего исследователя. Все АЕ будут задокументированы минимум в течение 100 дней после введения последней дозы OR до удовлетворения какого-либо из указанных выше условий.

В течение периода последующего обследования, если пациента подвергают местному лечению (например, резекции, лучевой терапии) или начинают новую системную терапию, пациента необходимо впоследствии обследовать на выживаемость каждые 3 месяца (раздел 4.1.4).

2.1.4. Последующее обследование на выживаемость.

Пациента, давшего согласие на последующее обследование на выживаемость после исключения из группы исследовательского лечения, прекращения лечения исследуемым лекарственным средством по причине прогрессирования заболевания или прекращения посещений для последующего обследования, описываемых в разделе 4.1.3, будут впоследствии обследовать на выживаемость каждые 3 месяца или чаще по мере необходимости. Последующее обследование на выживаемость можно осуществлять по телефону, а не при личном посещении.

2.1.5. Длительность исследования.

Пациенты, которым вводили исследуемые лекарственные средства, могут продолжать участие в исследовании при условии, что они испытывают клиническое преимущество по мнению исследователя, или до определения исследователем неприемлемой токсичности или ухудшения симптомов, приписываемых прогрессированию заболевания после комплексной оценки рентгенологических данных, резуль-

татов биопсии (если они доступны) и клинического состояния или отзыва согласия.

2.1.6. Правила прекращения.

2.1.6.1. Правила прекращения в случае фазы 1a.

Если 2 или более пациента на любом уровне дозы испытывают DLT в течение 28-дневного периода оценки DLT, исследователи и спонсор будут рассматривать данные и следовать руководствам, приведенным в табл. 2 (раздел 4.1.2.1). Если повышение дозы прекращают по причине DLT, то оцениваемую дозу ниже той, к которой применили правило прекращения, будут считать MTD.

2.1.6.2. Правила прекращения для всех когорт.

В лечении связанных с лекарственным средством токсичностей степени 4 или 5 будут следовать таблицам лечения побочных эффектов (приложение E и F).

Спонсор будет обсуждать такие случаи с Комитетом по рассмотрению когорт и исследователями, при необходимости, для определения дальнейшего включения в исследование. Исследователи будут отмечать IRB во всех случаях и решения, принятые в отношении продолжения включения в исследование.

2.1.6.3. Правила прекращения в случае клинического ухудшения.

Накопленные клинические данные свидетельствуют о том, что появление объективных ответов на средства, активирующие противоопухолевые иммунные ответы, может следовать замедленной кинетике в течение недель или месяцев, и ему может предшествовать начальное кажущееся прогрессирование заболевания с появлением новых очагов поражения или некоторого укрупнения очагов поражения при одновременном регрессировании конкретных индексных очагов поражения ("смешанный ответ"). Таким образом, разумно позволять пациентам испытывать кажущееся прогрессирование для продолжения проведения лечения до подтверждения прогрессирования при следующей оценочной визуализации (раздел 5.3.8). Эти соображения должны быть сбалансированы клинической оценкой того, происходит ли у пациента клиническое ухудшение, и маловероятно, что он получит какую-либо пользу от продолжения лечения.

Такое ухудшение будут оценивать как происходящее после клинического события, которое, по мнению исследователя, можно приписать прогрессированию заболевания, и маловероятно, что оно реверсируется при продолжении исследовательского лечения, и, таким образом, это свидетельствует о том, что пациент не получает пользу от исследовательского лечения, и его нельзя лечить посредством добавления поддерживающей терапии.

Решение о прекращении исследования необходимо обсуждать с назначенным спонсором медицинским наблюдателем или назначенным должностным лицом. Примеры событий, которые могут, по мнению исследователя, свидетельствовать об отсутствии клинического преимущества, включают в качестве неограничивающих примеров, следующие:

- повышение баллов по шкале Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) по меньшей мере на 2 балла относительно исходного уровня (например, от 0 до 2),

- изменения привычек, такие как изменения показателей и симптомов, включая снижение аппетита и/или ухудшение сна, изменение восприятия и повышение связанных с болью симптомов по причине злокачественного новообразования,

- прогрессирование заболевания, подтвержденное лечащим исследователем.

Любое условие, в котором начало новой антинеопластической терапии считают благоприятным для пациента даже в отсутствие любых таких задокументированных клинических событий.

2.2. Исследуемая выборка.

2.2.1. Планируемое количество пациентов и исследовательские центры.

Предполагают, что общее количество пациентов, планируемое для этого исследования, будет составлять 270; приблизительно 30 пациентов в части 1a и 240 пациентов в части 1b (приблизительно 30 пациентов в каждой из восьми когорт фазы 1b). В этом исследовании будет участвовать от 65 до 70 исследовательских центров. В течение включения в любую когорт для расширения количества пациентов, которых лечили максимально переносимой дозой, если наблюдаемое количество ответов делает маловероятным достижение целевой доли ответивших для этого показателя (например, 10%), то дальнейший набор в эту когорт можно приостанавливать или прекращать.

2.2.2. Критерии включения для всех когорт.

Для включения в исследование необходимо соответствие всем следующим критериям.

1. Заболевание, измеримое посредством компьютерной томографии (КТ)/магнитно-резонансной томографии (МРТ) по критериям оценки ответа солидных опухолей на терапию (RECIST) версии 1.1, предпочтительно осуществляемой в течение 28 дней после введения первой дозы.

2. Пациенты должны иметь по меньшей мере 1 очаг опухоли, который можно подвергать биопсии, и могут быть рекомендованы биопсии перед лечением, в ходе лечения и после прогрессирования (за исключением пациентов в когорте глиобластомы); биопсия после прогрессирования является необязательной для пациентов в когортах фазы 1b. Биопсии будут осуществляться по собственным руководствам лечебного учреждения минимум для 10 пациентов в каждой когорте фазы 1b.

3. Архивный фиксированный формалином, погруженный в парафин (FFPE) материал опухоли, если он доступен.

4. Понимание и подписание одобренного IRB/IEC ICF перед любой связанной с исследованием оценкой.

5. Возраст ≥ 18 лет.

6. Функциональный статус по ECOG 0 или 1.

7. Желание и способность соответствовать всем исследовательским процедурам.

8. Предшествующую фокальную лучевую терапию необходимо завершать по меньшей мере за 2 недели до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства. Отсутствие радиофармацевтических средств (стронций, самарий) в течение 8 недель перед введением исследуемого лекарственного средства.

9. Предшествующее хирургическое лечение, для которого необходима общая анестезия, необходимо завершать по меньшей мере за 2 недели перед введением исследуемого лекарственного средства. Хирургическое лечение, для которого необходима местная/эпидуральная анестезия, необходимо завершать по меньшей мере за 72 ч перед введением исследуемого лекарственного средства, и пациенты должны восстановиться.

10. Значения лабораторных скрининговых показателей должны соответствовать следующим критериям.

Гематологический анализ

a). Лейкоциты (WBC) ≥ 2000 клеток/мкл.

b). Нейтрофилы ≥ 1500 клеток/мкл.

c). Тромбоциты $\geq 100 \times 10^3$ /мкл.

d). Гемоглобин $\geq 9,0$ г/дл.

Креатинин сыворотки $\leq 1,5 \times \text{ULN}$ или выведение креатинина ≥ 40 мл/мин (с использованием формулы Кокрофта-Голта)

$$\text{Выведение креатинина (жен.)} = \frac{(140 - \text{возраст в годах}) \times (\text{масса тела в кг}) \times 0,85}{72 \times (\text{креатинин сыворотки в мг/дл})}$$

$$\text{Выведение креатинина (муж.)} = \frac{(140 - \text{возраст в годах}) \times (\text{масса тела в кг})}{72 \times (\text{креатинин сыворотки в мг/дл})}$$

e). PT/INR $\leq 1,5 \times \text{ULN}$ и PTT (aPTT) $\leq 1,5 \times \text{ULN}$.

Печеночные показатели

a). АСТ или АЛТ $\leq 3 \times \text{ULN}$ без метастазов в печени и $\leq 5 \times \text{ULN}$ при метастазах в печени.

b). Билирубин $\leq 1,5 \times \text{ULN}$ (за исключением пациентов с синдромом Жильбера, которые должны иметь общий билирубин < 3 мг/дл).

11. Женщины репродуктивного возраста (WOCBP) должны иметь отрицательный β -хорионический гонадотропин человека (β -hCG) в сыворотке при скрининге и согласие на использование надежной формы контрацепции (например, оральных контрацептивов, внутриматочного контрацептива или средства двойной барьерной контрацепции презерватив и спермицидное средство) в течение по меньшей мере 28 дней перед введением первой дозы какого-либо исследуемого лекарственного средства в течение периода лечения (и периода лечения/последующего обследования, если вводят исследуемое лекарственное средство) и в течение по меньшей мере 23 недель после введения последней дозы какого-либо исследуемого лекарственного средства. Будут соблюдены конкретные требования страны, в которой проводят исследование (например, в Великобритании женщины репродуктивного возраста и пациенты-мужчины и их партнеры репродуктивного возраста в течение исследования должны использовать два способа контрацепции, один из которых должен быть барьерным способом).

12. Мужчины, сексуально активные в отношении WOCBP, должны согласиться следовать инструкциям по способам контрацепции в течение лечения исследуемым лекарственным средством и еще 31 неделю после завершения лечения.

2.2.3. Критерии исключения для всех когорт.

Пациентов, соответствующих любому из следующих критериев, будут исключать из исследования.

1. Клинически значимые мышечные нарушения (например, миозит) в настоящее время или в анамнезе, недавнее неразрешившееся повреждение мышц или любое состояние, при котором, как известно, повышаются уровни СК в сыворотке.

2. Необходимо прекращать введение иммуносупрессорных доз системных лекарственных средств, таких как стероиды, или абсорбирующихся местных стероидов (суточные дозы > 10 мг/день преднизона или эквивалента) по меньшей мере за 2 недели до введения исследуемого лекарственного средства, за исключением случаев лечения, связанных с опухолью АЕ. Пациентов с состоянием, в случае которого необходимо системное лечение любыми кортикостероидами (ингалируемыми или местными стероидами и стероидами для заместительной терапии при надпочечниковой недостаточности в дозах > 10 мг/день эквивалента преднизона) или другими иммуносупрессорными лекарственными средствами в течение 2 недель лечения, допускают до участия в исследовании в отсутствие активного аутоиммунного заболевания.

ния.

3. Сниженная функция сердца класса >2 по NYHA.
 4. Неконтролируемое или значимое нарушение сердца, такое как нестабильная стенокардия.
 5. Значимые отклонения на ЭКГ при скрининге. QTcF >450 мс для мужчин или >470 мс для женщин при скрининге.
 6. Появление антител против лекарственных средств, тяжелая аллергическая, анафилактическая или другая связанная с инфузией реакция на вводимое ранее биологическое средство в анамнезе.
 7. Чувствительность к инфузионным растворам, содержащим Tween 20 (полисорбат 20) и полисорбат 80, в анамнезе.
 8. Регулярное потребление непастеризованного молока или известный значимый риск воздействия возбудителей оппортунистических внутриклеточных инфекций, таких как листерия или другие такие патогены.
 9. Лечение неонкологическими вакцинами для профилактики инфекционных заболеваний (например, вакциной против HPV) в течение 4 недель введения исследуемого лекарственного средства. Инактивированную вакцину против сезонного гриппа можно вводить индивидуумам перед лечением и в течение лечения без ограничения. Можно допускать использование вакцин против гриппа, содержащих живой вирус, или другой клинически показанной вакцинации против инфекционных заболеваний (т.е. пневмовакс, против ветряной оспы и т.д.), но это необходимо обсуждать с назначенным спонсором медицинским наблюдателем, и может потребоваться период вымывания исследуемого лекарственного средства до и после введения вакцины.
 10. Текущая неразрешенная инфекция или хроническая, активная, клинически значимая инфекция (вирусная, бактериальная, грибковая или другая) в анамнезе, которая, по мнению исследователя, будет предотвращать воздействие биологического средства на пациента или представлять риск для безопасности пациента.
 11. Положительный тест на латентный туберкулез (ТВ) при скрининге (квантифероновый тест) или доказательство активного ТВ.
 12. Отсутствие доступа к периферическим венам или любое состояние, которое будет мешать введению лекарственного средства или сбору исследуемых образцов.
 13. Любое неконтролируемое медицинское состояние или психиатрическое нарушение, которое, по мнению исследователя, будет представлять риск для безопасности пациента или мешать участию в исследовании или интерпретации результатов отдельного пациента.
 14. Одновременное использование статинов во время исследования. Однако можно допускать включение в исследование пациента, использующего статины в течение 3 месяцев до введения исследуемого лекарственного средства и находящегося в стабильном состоянии без повышения СК.
 15. Беременность или грудное вскармливание.
 16. Активное, известное или предполагаемое аутоиммунное заболевание. Допускают включение в исследование пациентов с сахарным диабетом I типа, гипотиреозом, для которого необходима гормонозаместительная терапия, кожными нарушениями (такими как витилиго, псориаз или алопеция), для которых не требуется системное лечение, или состояниями, рецидивов которых не ожидают в отсутствие внешнего триггерного фактора.
 17. Участие в другом исследовании лекарственного средства в течение 28 дней до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства или во время этого исследования.
 18. Положительный тест на вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) 1 и 2 или синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД) в анамнезе.
 19. Положительный тест на поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg) или детектируемая рибонуклеиновая кислота вируса гепатита С (РНК HCV), свидетельствующая об острой или хронической инфекции.
 20. Симптоматическое интерстициальное заболевание легких или воспалительный пневмонит.
 21. Неподвергнутые лечению или активные метастазы в центральной нервной системе (ЦНС) или лептоменингеальные метастазы. Пациенты подходят для включения, если метастазы подвергаются лечению, и пациенты неврологически возвращаются к исходному уровню (за исключением остаточных признаков или симптомов, относящихся к лечению ЦНС) в течение по меньшей мере 2 недель до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства.
 22. Признаки цирроза печени, подтверждаемые повышением щелочной фосфатазы и одновременным повышением соотношения АЛТ/АСТ и гипоальбуминемией (<3,0 г/дл).
 23. Признаки коагулопатии или геморрагического диатеза.
 24. Какое-либо неконтролируемое воспалительное заболевание ЖКТ, включая болезнь Крона и язвенный колит.
 25. Предшествующее воздействие каких-либо ингибиторов пути CSF1R.
 26. Переливание, осуществленное в течение 72 ч до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства.
- 2.2.4. Дополнительные критерии включения и исключения для выбранных когорт.

2.2.4.1. Фаза 1a.

2.2.4.1.1. Когорты монотерапии НuAB1.

Включение.

1. Гистологически или цитологически подтвержденная солидная опухоль, локально рецидивирующая или метастазирующая и прогрессирующая после стандартного лечения или не подходящая для стандартного лечения.

2.2.4.1.2. Когорты комбинации НuAB1+ниволумаб.

Включение.

1. Гистологически или цитологически подтвержденная солидная опухоль, локально рецидивирующая или метастазирующая и прогрессирующая после стандартного лечения или не подходящая для стандартного лечения.

Исключение.

1. Предшествующее воздействие какого-либо лекарственного средства, воздействующего на путь PD-1.

2.2.4.2. Фаза 1b.

2.2.4.2.1. Когорта 1b1: NSCLC (наивный в отношении терапии против PD-1, вторая или третья линии).

Включение.

1. Пациенты с гистологически или цитологически задокументированным плоскоклеточным или неплакоклеточным NSCLC со стадией IIIB или IV заболевание (согласно версии 7 руководства по стадированию в торакальной онкологии International Association for the Study of Lung Cancer Staging manual) и с рецидивирующим или прогрессирующим заболеванием после комбинированного лечения (лучевая терапия, хирургическая резекция или радикальная химиолучевая терапия) для локального заболевания на поздних стадиях или метастазирующего заболевания.

2. Прогрессирование заболевания или рецидивирование в течение/после двухкомпонентной химиотерапии соединениями платины для заболевания на поздних стадиях или метастазирующего заболевания.

Поддерживающая терапия после двухкомпонентной химиотерапии соединениями платины не считается отдельной схемой лечения.

Подходят индивидуумы, которым вводили содержащее платину вспомогательное средство, неoadьювант или проводили радикальную химиолучевую терапию по причине локального заболевания на поздних стадиях, и у которых развилось рецидивирующее (локальное или метастазирующее) заболевание в течение 6 месяцев после завершения терапии.

Подходят индивидуумы с рецидивирующим заболеванием в течение >6 месяцев после введения содержащего платину вспомогательного средства, неoadьюванта или проведения радикальной химиолучевой терапии по причине локального заболевания на поздних стадиях, которое также впоследствии прогрессировало в течение или после двухкомпонентной химиотерапии соединениями платины для лечения рецидива.

Исключение.

1. Предшествующее воздействие какого-либо лекарственного средства, воздействующего на путь PD-1.

2.2.4.2.2. Когорта 1b2: NSCLC (рефрактерный в отношении лекарственных средств против PD-1).

Включение.

1. Пациенты с гистологически или цитологически задокументированным NSCLC с локальным заболеванием на поздней стадии IIIB или заболеванием стадии IV.

2. Пациент имеет рентгенологические признаки прогрессирования заболевания в течение лечения лекарственным средством, воздействующим на путь PD-1, не приводящего к клиническому ответу (т.е. ни CR, ни PR), и с прогрессирующим заболеванием в качестве лучшего ответа.

3. Чтобы считаться рефрактерными, пациенты не должны иметь клинический ответ после введения по меньшей мере 2 доз какого-либо лекарственного средства, воздействующего на PD-1.

Исключение.

1. Непереносимость какого-либо лекарственного средства, воздействующего на путь PD-1.

Непереносимость определяют как какой-либо связанный с лечением АЕ степени 4 или любой связанный с лечением АЕ степени 2 или 3, неприемлемый для пациента и сохраняющийся, несмотря на стандартные контрмеры.

2.2.4.2.3. Когорта 1b3: меланома (наивная в отношении терапии против PD-1).

Включение.

1. Пациенты с гистологически или цитологически задокументированной меланомой стадии III или IV в соответствии с системой стадирования American Joint Committee on Cancer (AJCC), рефрактерные, непереносящие или отказавшиеся от стандартной терапии для лечения метастазирующей меланомы.

2. Объективные признаки прогрессирования заболевания (клинические или рентгенологические) в течение или после введения по меньшей мере 1 ингибитора BRAF (при наличии мутации BRAF V600).

3. Известный BRAF дикого типа согласно приемлемому тестированию мутационного статуса V600. Исключение.

1. Предшествующая терапия каким-либо лекарственным средством, воздействующим на путь PD-1.

2. Мутантные по BRAF индивидуумы и индивидуумы с промежуточным или неизвестным статусом BRAF не допускаются до участия в этом исследовании.

2.2.4.2.4. Когорта 1b4: меланома (рефрактерная или рецидивирующая при лечении лекарственным средством против PD-1).

Включение.

1. Пациенты с гистологически или цитологически задокументированной нерезектабельной меланомой стадии III или IV в соответствии с системой стадирования AJCC.

2. Пациент имеет рентгенологические признаки прогрессирования заболевания в течение лечения ингибитором контрольных точек или лекарственным средством, воздействующим на PD-1, не приводящего к клиническому преимуществу (ни CR, ни PR, ни SD), и прогрессирующим заболеванием в качестве лучшего ответа или прогрессированием заболевания после исходного клинического преимущества в виде CR, PR или SD в течение лечения лекарственным средством, воздействующим на PD-1.

3. Чтобы считаться рефрактерными, пациенты не должны иметь ответ после введения по меньшей мере 2 доз какого-либо лекарственного средства, воздействующего на PD-1.

4. Объективные признаки прогрессирования заболевания (клинические или рентгенологические) в течение или после лечения по меньшей мере 1 ингибитором BRAF (при наличии мутации BRAF V600).

5. Предшествующую противоопухолевую терапию, включая дакарбазин, ингибитор BRAF (при наличии мутации BRAF V600) и/или ипилимумаб, и паллиативную лучевую терапию необходимо завершать по меньшей мере за 3 недели до введения исследуемого лекарственного средства.

6. Отсутствие предшествующего лечения лекарственным средством, воздействующим на PD-1, в течение 6 недель до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства.

Исключение.

1. Мутантные по BRAF индивидуумы и индивидуумы с промежуточным или неизвестным статусом BRAF не допускаются до участия в этом исследовании.

2. Меланома сетчатки глаза.

3. Предшествующая непереносимость какого-либо лекарственного средства, воздействующего на PD-1.

Непереносимость определяют как какой-либо связанный с лечением АЕ степени 4 или любой связанный с лечением АЕ степени 2 или 3, неприемлемый для пациента и сохраняющийся, несмотря на стандартные контрмеры. Причина непереносимости должна быть полностью задокументирована.

2.2.4.2.5. Когорта 1b5: плоскоклеточная карцинома головы и шеи (SCCHN) (вторая линия).

Включение.

1. Пациенты с гистологически или цитологически задокументированной рецидивирующей или метастазирующей SCCHN (ротовой полости, глотки, гортани) стадии III или IV, не поддающейся местной терапии, направленной на излечение (хирургическое лечение или лучевая терапия с химиотерапией или без нее).

2. Прогрессирование или рецидивирование опухоли в течение 6 месяцев после введения последней дозы терапии соединениями платины в условиях вспомогательной терапии (т.е. с облучением после хирургического лечения), первичной (т.е. с облучением), рецидивирующей или метастазирующей опухоли. Клиническое прогрессирование после терапии соединениями платины является допустимым событием для включения в исследование, и его определяют как прогрессирование очага поражения размером по меньшей мере 10 мм, поддающегося измерению калипером (например, поверхностный кожный очаг в соответствии с RECIST версии 1.1), или очага поражения, визуализируемого и фотографируемого с измерениями, и показано, что он прогрессирует.

Исключение.

1. Гистологически подтвержденная рецидивирующая или метастазирующая карцинома носоглотки и любой слюнной железы или неплюскоклеточная гистология.

2. Предшествующее воздействие какого-либо лекарственного средства, воздействующего на путь PD-1.

2.2.4.2.6. Когорта 1b6: рак поджелудочной железы (вторая линия).

Включение.

1. Гистологически или цитологически задокументированная локализованная или метастазирующая аденокарцинома поджелудочной железы, не поддавшаяся стандартной терапии (или для которой не показана стандартная терапия).

2. Пациенты, которым ранее могли проводить хирургическое лечение, лучевую терапию для лечения локализованной аденокарциномы поджелудочной железы на поздних стадиях или метастазирующей аденокарциномы поджелудочной железы при условии того, что прогрессирование заболевания задокументировано. Все токсичности должны быть разрешены, и последнюю фракцию лучевой терапии завершали по меньшей мере за 4 недели до первого введения исследуемого лекарственного средства.

Исключение.

1. Пациенты с неоплазиями островковых клеток, нейроэндокринными или другими первичными опухолями поджелудочной железы.

2. Пациенты с активным панкреатитом.

3. Предшествующее воздействие какого-либо лекарственного средства, воздействующего на путь PD-1.

4. Асцит степени 2 или выше.

2.2.4.2.1. Когорта 1b7: колоректальный рак (третья линия).

Включение.

1. Гистологически или цитологически задокументированная аденокарцинома толстого кишечника или прямой кишки.

2. Метастазирующий CRC с задокументированным прогрессированием заболевания после последнего введения стандартных терапевтических средств или непереносимости стандартных терапевтических средств (и одобренных терапевтических средств, включающих фторпиримидин, оксалиплатин, иринотекан, бевацизумаб и, при наличии KRAS дикого типа, цетуксимаб или панитумумаб).

Исключение.

1. Предшествующее воздействие какого-либо лекарственного средства, воздействующего на путь PD-1.

2.2.4.2.8. Когорта 1b8: злокачественная глиома (первый рецидив).

Включение.

1. Гистологически или цитологически задокументированная злокачественная глиома (глиобластома или глиосаркома) на поздних стадиях стадии IV согласно критериям Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ).

2. Предшествующее хирургическое лечение, лучевая терапия и терапия темозоломидом.

3. Задокументированный первый рецидив GBM при диагностической биопсии или контрастной МРТ, осуществляемой в течение 21 дней после первого введения исследуемого лекарственного средства по критериям Response Assessment in Neuro-oncology (RANO).

4. При лечении стероидами доза должна быть стабильной, или ее необходимо снижать минимум за 5 дней до исходной МРТ.

Исключение.

1. Предшествующее лечение бевацизумабом или другим средством, воздействующим на VEGF или VEGFR.

2. Недавние признаки геморагии ЦНС степени выше 1 при исходном сканировании МРТ.

3. Заболевание ЦНС (например, судороги) в анамнезе или при физиологическом/неврологическом обследовании, не связанное со злокачественным новообразованием, если оно не контролируется в достаточной степени посредством терапии, или потенциально мешающее исследовательскому лечению.

4. Пациенты, которым нельзя проводить контрастную МРТ по причине существующего медицинского состояния, включая наличие кардиостимулятора или имплантируемого кардиовертера-дефибриллятора (ICD).

5. Несколько рецидивов глиобластомы или глиосаркомы.

6. Предшествующее воздействие какого-либо лекарственного средства, воздействующего на путь PD-1.

2.3. Сопутствующее медикаментозное лечение.

Будут регистрировать все лекарственные средства, вводимые в течение 28 дней до введения первой дозы какого-либо исследуемого лекарственного средства, и всю сопутствующую терапию, проводимую в течение исследования до достижения 100 дней после введения последней дозы какого-либо исследуемого лекарственного средства.

Будут собирать информацию о всем предшествующем лечении, показанном для злокачественного новообразования на поздних стадиях, включая химиотерапию, биохимиотерапию, иммунотерапию, лучевую терапию, хирургическое лечение, биологическую и экспериментальную терапию.

Не будут собирать информацию о сопутствующем лечении после прекращения участия пациента в исследовании, за исключением использования сопутствующего лечения, ассоциированного с АЕ, связанными с исследуемым лекарственным средством, или АЕ, приведшими к прекращению участия в исследовании.

2.3.1. Запрещенные и/или ограниченные лекарственные средства.

Использование следующих лекарственных средств запрещено в течение исследования (если их не используют для лечения АЕ, связанного с лекарственным средством, или указано в разделе о пригодности к исследованию):

Иммуносупрессирующие средства.

Иммуносупрессорные дозы системных кортикостероидов.

Разрешены ингалируемые или местные стероиды и заместительная терапия при надпочечниковой недостаточности >10 мг эквивалента преднизона в сутки в отсутствие активного аутоиммунного заболе-

вания. Также разрешены стероиды для лечения связанных с опухолью АЕ по клиническим показаниям.

Вакцины, за исключением указанных в разделе 4.3.2.

Статины для лечения гиперхолестеринемии.

Статины будут разрешать, только если пациенту вводят стабильную дозу в течение более 3 месяцев перед исследованием, и он находится в стабильном состоянии без каких-либо повышений СК.

Другие терапевтические средства, включая биологическую терапию, иммунотерапию, обширную непаллиативную лучевую терапию, стандартное лечение или исследовательские средства или устройства.

2.3.2. Разрешенная терапия.

Пациентам разрешают использовать местные, глазные, внутрисуставные, интраназальные и ингалируемые кортикостероиды (с минимальной системной абсорбцией). Разрешены дозы стероидов для заместительной терапии при надпочечниковой недостаточности >10 мг преднизона в сутки. Разрешен краткий (менее 3 недель) курс кортикостероидов для профилактики (например, аллергии на контраст) или лечение неаутоиммунных состояний (например, реакции гиперчувствительности замедленного типа, вызываемой контактным аллергеном), а также для лечения связанного с опухолью АЕ.

Разрешена сопутствующая паллиативная и поддерживающая терапия связанных с заболеванием симптомов (включая бисфосфонаты и ингибиторы RANK-L), если ее начинали до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства. Разрешены переливания, по мере необходимости.

Индивидуумам можно вводить инактивированную вакцину против сезонного гриппа во время проведения терапии без ограничения. Можно разрешать вакцины против вируса гриппа, содержащие живой вирус, или другие клинически показанные вакцины от инфекционных заболеваний (т.е. пневмовакс, против ветряной оспы и т.д.), но это необходимо обсуждать с назначенным спонсором медицинским наблюдателем, и может потребоваться период вымывания исследуемого лекарственного средства перед и после введения вакцины.

Будут разрешать одновременное использование статинов, только если пациенту будут вводить стабильную дозу в течение более 3 месяцев перед исследованием, и он будет иметь стабильное состояние без каких-либо повышений СК.

Не будут проводить рутинную премедикацию для начальных доз NuAB1 и ниволумаба. Если у пациента развивается тошнота, рвота или другие связанные с инфузией АЕ, пациенту можно проводить премедикацию антиэметиками, стероидами или антигистаминными средствами перед последующими инфузиями исследуемых лекарственных средств по решению исследователя. Лечение будут проводить в соответствии со стандартной практикой лечебного учреждения, и его необходимо фиксировать в CRF пациента.

2.4. Прекращение участия пациентов в исследовании после какого-либо лечения исследуемым лекарственным средством.

Необходимо прекращать введение исследуемых лекарственных средств пациентам по любой из следующих причин:

отзыв информированного согласия (решения пациента об отзыве по любой причине),

любой клинически значимый АЕ, отклонения лабораторных показателей или интеркуррентное заболевание, которое, по мнению исследователя, свидетельствует о том, что продолжение участия в исследовании не в интересах пациента,

пациенты, которым требуется запрещенная сопутствующая терапия,

беременность,

прекращение исследования спонсором,

утрата способности свободно давать согласие в результате тюремного заключения или принудительного лечения психиатрического или физического (например, инфекционного заболевания) заболевания,

задокументированное прогрессирование заболевания или клиническое ухудшение во время активной исследовательской терапии,

несоблюдение пациентом инструкций.

Все пациенты, в отношении которых прекращено исследовательское лечение, должны следовать протоколу, в котором приведены процедуры последующего обследования, как указано в разделе 6. Единственным исключением для этого требования является случай, когда пациент отзывает согласие на все исследовательские процедуры или утрачивает способность свободно давать согласие (т.е. в результате тюремного заключения или принудительного лечения психиатрического или физического заболевания).

Если пациента исключали до завершения исследования, причину исключения необходимо вносить в соответствующую CRF. Дату и причину прекращения введения NuAB1 и/или ниволумаба будут документировать, и исследователь должен предпринимать каждое усилие для осуществления процедур посещения для завершения/раннего прекращения лечения. Пациентов будут обследовать впоследствии в течение 100 дней после введения последней дозы NuAB1 на безопасность, и пациентов с существующими SAE будут обследовать впоследствии до разрешения или стабилизации.

2.5. Последующее обследование после лечения.

Пациентам, прекратившим лечение, но достигшим клинического преимущества (т.е. CR, PR или SD), необходимо проводить сканирования опухоли при последующем обследовании по протоколу для определения длительности ответа, если согласие не отозвано.

3. Исследуемые лекарственные средства.

В этом исследовании оба исследуемых лекарственных средства, HuAB1 и ниволумаб, считают исследовательскими [медицинскими] продуктами (IP/IMP). Описания продуктов, HuAB1 и ниволумаба, представлено в табл. 3 и 4.

Таблицы 3 и 4

Исследуемое лекарственное средство для когорт монотерапии фазы 1a

Описание продукта/Класс и лекарственная форма	Активная доза	IP	Без контроля плацебо	Упаковка/Внешний вид	Условия хранения (в соответствии с вкладышем)
Раствор HuAB1 для инъекций	100 мг (20 мг/мл)	5 мл на сосуд	X сосудов на картонную упаковку/без контроля плацебо	Стерильный, водный, бесцветный, раствор, не содержащий пирогены, в стеклянных сосудах типа 1 емкостью 5 мл, снабженных пробками из бутилкаучука и съёмными алюминиевыми пломбами	2-8°C (36-46°F). Беречь от замораживания.

Таблица 4 - Исследуемые лекарственные средства для когорт повышения дозы комбинации фаза 1a и когорт с фазой расширения количества пациентов, которых лечили максимально переносимой дозой, фазы 1b

Описание продукта/Класс и лекарственная форма	Активная доза	IP	Открытое	Упаковка/Внешний вид	Условия хранения (в соответствии с вкладышем)
Раствор ниволумаба для инъекций	100 мг (10 мг/мл)	10 мл на сосуд	10 сосудов на картонную упаковку/без контроля плацебо	Жидкость от прозрачного до опалесцирующего, от бесцветного до бледно-желтого. Может содержать частицы	2-8°C. Защищать от воздействия света и замораживания
Раствор HuAB1 для инъекций	100 мг (20 мг/мл)	5 мл на сосуд	X сосудов на картонную упаковку без контроля плацебо	Стерильный, водный, бесцветный, раствор, не содержащий пирогены, в стеклянных сосудах типа 1 емкостью 5 мл, снабженных пробками из бутилкаучука и съёмными алюминиевыми пломбами	2-8°C (36-46°F). Беречь от замораживания

3.1. Исследовательские продукты.

Исследовательский продукт, также известный в этой области как исследовательский медицинский продукт, определяют как фармацевтическую форму активного вещества или плацебо, тестируемых или используемых в качестве референса в клиническом исследовании, включая продукты, уже имеющие регистрационное удостоверение, но используемые или собираемые (составленные или упакованные) иначе, чем одобренная форма, или используемые для неодобренного показания, или используемые для получения дополнительной информации об одобренной форме. В этом протоколе исследовательскими продуктами являются huAB1 и ниволумаб.

3.2. Введение исследуемого лекарственного средства и модификация дозы.

3.2.1. Введение.

В случае комбинированного лечения ниволумаб всегда необходимо вводить первым в виде 30-минутной IV инфузии с 30-минутным интервалом между 2 инфузиями с последующей 30-минутной инфузией HuAB1. Пациентам можно вводить дозы не менее чем через 12 дней после предыдущей дозы.

Для когорты монотерапии 4 мг/кг (1aM2) и когорт повышения дозы комбинации 1aC2 и 1aC3 интервал между введениями между первым и вторым пациентами в каждой когорте должен составлять по меньшей мере 24 ч для мониторинга безопасности.

Вычисления доз должно быть основано на массе тела, оцениваемой в день 1 цикла 1 перед введением первой дозы исследуемого лекарственного средства. Необязательно снова вычислять последующие дозы, если масса тела пациента не более чем на 10% отклоняется от массы, используемой для вычисления предыдущей дозы. Все дозы необходимо округлять до ближайшего значения в миллиграммах.

Пациентов необходимо тщательно мониторировать на инфузионные реакции в течение введения исследуемого лекарственного средства. Если отмечают острую инфузионную реакцию, пациентов необходимо лечить в соответствии с руководствами в разделе 5.3.10 и приложении E и F.

Введение доз исследуемых лекарственных средств можно прерывать, задерживать или прекращать в зависимости от переносимости лечения пациентом.

Все сосуды предназначены исключительно для однократного использования. Дополнительные инструкции по получению и введению исследуемого лекарственного средства будут представлены в фармацевтическом руководстве.

3.2.1.1. Введение ниволумаба.

Пациентам в когортах комбинированного лечения будут проводить инфузию ниволумаба сначала в

дозе 3 мг/кг в виде 30-минутной IV инфузии в день 1 каждого 14-дневного цикла лечения.

Не будет разрешено повышение или снижение дозы ниволумаба. Пациентам можно вводить дозу не менее чем через 12 дней после предыдущей дозы. Нет премедикации, рекомендуемой для ниволумаба в первом цикле. См. IV ниволумаба на предмет инструкций по получению и обращению.

3.2.1.2. Введение NuAB1.

В случае пациентов в когортах комбинированного лечения инфузию NuAB1 будут проводить через 30 мин после окончания инфузии ниволумаба в виде 30-минутной IV инфузии в день 1 каждого 14-дневного цикла лечения. В случае пациентов в когортах монотерапии инфузию NuAB1 можно начинать в любое время в виде 30-минутной IV инфузии в день 1 каждого 14-дневного цикла лечения.

Дозу NuAB1 можно модифицировать с учетом токсичности, отмеченной в течение периода лечения. При необходимости, дозу будут корректировать с учетом таблицы токсичность-модификация (приложения E и F).

Фармацевт-исследователь (или другой ответственный специалист) будет подготавливать раствор для введения. После вычисления количества сосудов, учитывая массу тела пациента, исследуемый лекарственный продукт будут разводить 0,9% хлоридом натрия для инъекций, USP. Полученное NuAB1 необходимо вводить в пределах 6 ч после получения (температура окружающей среды). Устройство для IV введения для инфузии NuAB1 должно содержать встроенный фильтр 0,22 мкм или шприцевой фильтр 0,22 мкм. NuAB1 будут вводить под наблюдением врача в виде 30-минутной (± 5 мин) IV инфузии через периферическую вену или центральный венозный катетер. Не наблюдали несовместимостей между инфузией huAB1 и поливинилхлоридными (PVC), этиленовыми/пропиленовыми компонентами IV-системы или стеклянными бутылками.

3.2.2. Приостановка лечения huAB1 и ниволумабом.

Введение NuAB1 при монотерапии или NuAB1/ниволумаба при комбинированном лечении необходимо приостанавливать в следующих случаях:

какая-либо утомляемость степени 3, не разрешающаяся до степени 1 или исходного уровня до следующего посещения,

какие-либо отклонения лабораторных показателей степени 2 или 3, связанные с лекарственным средством, не требуют приостановки лечения, если это не показано клинически или указано в протоколе или таблице лечения побочных эффектов. Это необходимо обсуждать с назначенным спонсором медицинским наблюдателем или уполномоченным лицом по мере необходимости,

в случае приостановки лечения или модификаций дозы для всех других АЕ (см. таблицы лечения АЕ в приложении E),

пациентов, которым требуется приостановка лечения NuAB1 или NuAB1+ниволумабом, необходимо повторно обследовать еженедельно или чаще, если это показано клинически, и возобновлять введение исследуемого лекарственного средства при соответствии критериям возобновления лечения,

если у пациента наблюдают инфузионную реакцию на NuAB1, или ниволумаб, или оба исследуемых лекарственных средства, инфузионную реакцию необходимо лечить, следуя руководствам по лечению инфузионных реакций в разделе 5.3.10 и приложении E и F.

3.2.3. Критерии возобновления лечения NuAB1 и ниволумабом.

Можно возобновлять лечение пациентов NuAB1 или NuAB1+ниволумабом, если связанные с лекарственным средством АЕ разрешают до степени ≤ 1 или исходного уровня, как указано в таблицах лечения АЕ в приложениях E и F.

3.2.4. Снижение дозы NuAB1.

Снижение дозы NuAB1 можно разрешать для пациентов, находящихся на длительном лечении вне периода DLT в фазе 1a, или любого пациента в фазе 1b, по руководствам в соответствующих таблицах лечения АЕ в приложениях E и F. Если исследователь рассматривает снижение дозы или прерывание введения, не попадающие в объем этих руководств, они потребуют обсуждения со спонсором или уполномоченным лицом и его одобрения.

3.2.5. Критерии прекращения введения дозы в случае NuAB1 и ниволумаба.

Лечение NuAB1 при монотерапии или NuAB1 в комбинации с ниволумабом необходимо бессрочно прекращать в следующих случаях.

Какой-либо связанный с лекарственным средством увеит степени 2, боль в глазах или нечеткое зрение, не отвечающие на местную терапию и не улучшающиеся до степени 1 в течение второго периода повторного лечения OR, потребовавшие системного лечения.

Какие-либо связанные с инфузией реакции и гиперчувствительность степени 3 или выше, требующие прекращения участия в исследовании, и возобновление терапии потребует консультации с назначенным спонсором медицинским наблюдателем или уполномоченным лицом.

Какие-либо некожные, связанные с лекарственным средством АЕ степени 3, длящиеся >7 дней, включая связанный с лекарственным средством увеит, пневмонит, гипоксию, бронхоспазм и эндокринопатии со следующими исключениями:

связанные с лекарственным средством эндокринопатии степени 3, в достаточной степени контро-

лируемые с использованием исключительно физиологической гормонозаместительной терапии, не требуют прекращения участия в исследовании,

связанные с лекарственным средством отклонения лабораторных показателей степени 3 не требуют прекращения участия в исследовании, за исключением следующего:

связанная с лекарственным средством тромбоцитопения степени 3 >7 дней или ассоциированное со степенью >2 кровотечение требует прекращения участия в исследовании.

Какое-либо связанное с лекарственным средством отклонение функционального теста печени (LFT), соответствующее следующим критериям, требует прекращения участия в исследовании:

АСТ или АЛТ $10 \times \text{ULN}$.

Общий билирубин $>3 \times \text{ULN}$ ($>5 \times \text{ULN}$ с сопутствующими метастазами в печени).

АСТ или АЛТ $>3 \times \text{ULN}$ и общий билирубин $>2 \times \text{ULN}$ в отсутствие сопутствующего повышения щелочной фосфатазы.

Какой-либо связанный с лекарственным средством АЕ степени 4 или отклонение лабораторных показателей, за исключением следующих событий, не требующих прекращения участия в исследовании:

нейтропения степени 4 >7 дней,

лимфопения или лейкопения степени 4 >7 дней.

Отдельные отклонения амилазы или липазы степени 4, не ассоциированные с симптомами или клиническими проявлениями панкреатита. Необходимо консультироваться с назначенным спонсором медицинским наблюдателем в случае отклонений амилазы или липазы степени 4.

Отдельные электролитные нарушения/отклонения степени 4, не ассоциированные с клиническими осложнениями и корректируемые с использованием дополнительного/подходящего лечения в течение 72 ч после их возникновения.

Связанные с лекарственным средством эндокринопатические АЕ степени 4, такие как недостаточность надпочечников, дефицит адренокортикотропного гормона (АКТГ), гипер- или гипотиреоз или непереносимость глюкозы, разрешающиеся или в достаточной степени контролируемые посредством физиологической гормонозаместительной терапии (кортикостероиды, гормоны щитовидной железы) или средства для контроля глюкозы, соответственно, могут не потребовать прекращения участия в исследовании после обсуждения с назначенным спонсором медицинским наблюдателем и его одобрения.

Любое событие, приводящее к приостановке введения дозы, длящееся >6 недель после введения предыдущей дозы, требует прекращения участия в исследовании, со следующими исключениями:

разрешена приостановка введения доз, чтобы с помощью пролонгированных сниженных доз стероидов лечить связанные с лекарственным средством побочные эффекты. Пред возобновлением лечения пациента с приостановкой введения доз, длившейся >6 недель после введения предыдущей дозы, необходимо консультироваться с назначенным спонсором медицинским наблюдателем. Оценки опухоли необходимо продолжать по протоколу, даже если введение доз приостанавливают. Также необходимо продолжать периодические посещения в рамках исследования для оценки безопасности и лабораторные тесты по протоколу или чаще, если это клинически показано, в течение такой приостановки введения или по решению исследователя,

можно разрешать приостановку введения, длящуюся >6 недель после введения предыдущей дозы, по причинам, не связанным с лекарственным средством, если это одобрено назначенным спонсором медицинским наблюдателем. Перед возобновлением лечения пациента с приостановкой введения, длившейся >6 недель, необходимо консультироваться с назначенным спонсором медицинским наблюдателем. Оценки опухоли необходимо продолжать по протоколу каждые 8 недель, даже если введение доз приостанавливают. Также необходимо продолжать периодические посещения в рамках исследования для оценки безопасности и лабораторные тесты по протоколу или чаще, если это клинически показано, в течение такой приостановки введения или по решению исследователя.

Какой-либо АЕ, отклонение лабораторного показателя или интеркуррентное заболевание, которое, по мнению исследователя, представляет значительный клинический риск для пациента при продолжении введения huAB1 и/или ниволумаба.

Какая-либо неврологическая токсичность степени 3 или выше.

Какой-либо периорбитальный отек степени 3 или выше и устойчивый периорбитальный отек степени 2, требующий пропуска 2 доз, если это не одобрено назначенным спонсором медицинским наблюдателем.

Какая-либо связанная с лекарственным средством диарея или колит степени 3 или выше, мешающие повседневной деятельности.

Какая-либо кожная токсичность степени 3 или 4.

Какой-либо увеит степени 3 или выше.

Если подтверждено, что причиной побочного эффекта, требующего прекращения участия в исследовании, является одно из исследовательских лекарственных средств при комбинированном лечении, введение другого лекарственного средства можно продолжать по протоколу по следующим схемам:

своевременное разрешение побочного эффекта с учетом таблицы модификации лечения,

у индивидуума, по оценке исследователя, наблюдают клиническое преимущество.

3.2.6. Приостановка инфузий и пропущенные дозы NuAB1 и ниволумаба.

В случае, если нельзя проводить инфузию на запланированном посещении, ее необходимо проводить в кратчайшие сроки. Если приостановка составляет от 1 до 3 дней, необходимо осуществлять процедуры, исходно запланированные в это посещение. Если приостановка составляет более 3 дней, процедуры необходимо осуществлять во время следующего посещения, и последующие посещения будут скорректированы так, чтобы сохранять 2-недельный интервал между введениями (инфузию в исходно запланированное посещение будут считать пропущенной дозой). Время между двумя циклами лечения должно составлять не менее 12 дней.

Пациенты могут пропускать до 2 последовательных доз (до 6 недель между дозами), и можно возобновлять введение исследуемого лекарственного средства, если событие возвращается к исходному уровню или степени <1 в течение 6 недель после прерывания лечения. Пропуск дальнейшего введения в течение более 6 недель в случае АЕ потребует прекращения участия пациента в исследовании, если это не разрешено спонсором. Пациенты могут пропускать дозы в течение участия в исследовании, включая дозы, пропущенные по причине отпуска или других личных причин, по мере необходимости, но не более 2 последовательных доз, если это не одобрено назначенным спонсором медицинским наблюдателем.

3.2.1. Индивидуальное повышение дозы NuAB1 и ниволумаба.

Не разрешено индивидуальное повышение дозы ниволумаба или NuAB1.

3.2.8. Лечение после прогрессирования заболевания с использованием huAB1 и ниволумаба.

Накопленные данные свидетельствуют о том, что у меньшинства пациентов, подвергнутых иммунотерапии, можно достигать клинического преимущества, несмотря на исходные признаки прогрессирования заболевания (Wolchok, 2009).

Пациентам, подвергаемым лечению NuAB1 и ниволумабом, будут разрешать продолжать лечение NuAB1 и ниволумабом после исходного определенного прогрессирования заболевания по RECIST версии 1.1, оцениваемого исследователем, при условии соответствия следующим критериям.

Пациенты, которых будут лечить после прогрессирования заболевания, должны рассматривать и подписывать ICF до продолжения введения исследуемого лекарственного средства.

Оцениваемое исследователем клиническое преимущество и отсутствие быстрого прогрессирования заболевания.

Толерантность к исследуемым лекарственным средствам.

Стабильный функциональный статус.

Лечение после прогрессирования не будет приостанавливать неизбежное вмешательство для профилактики серьезных осложнений прогрессирования заболевания (например, метастазов в ЦНС).

Рентгенологическую оценку/сканирование необходимо осуществлять приблизительно через 8 недель после исходного оцениваемого исследователем прогрессирования для определения того, снижается ли размер опухоли или продолжается ли прогрессирование заболевания. Оценка клинического преимущества должна быть уравновешена клинической оценкой того, ухудшается ли клиническое состояние пациента, и маловероятно, что он получит пользу от продолжения лечения huAB1 и ниволумабом.

Если исследователь считает, что пациент, которого лечат NuAB1 и ниволумабом, продолжит достигать клинического преимущества при продолжении лечения, пациент должен оставаться в исследовании, и необходимо продолжать его мониторинг в соответствии со схемой времени и событий по протоколу.

В случае пациентов, которым продолжают исследовательскую терапию ниволумабом после прогрессирования, дальнейшее прогрессирование определяют как дополнительное повышение опухолевой массы на 10% с момента исходного прогрессирования. Оно включает повышение суммы диаметров всех очагов поражения и/или диаметров новых измеримых очагов поражения по сравнению с моментом исходного прогрессирования. Лечение NuAB1 и ниволумабом необходимо полностью прекращать после документирования дальнейшего прогрессирования.

При оценке новых очагов поражения будут следовать руководствам в RECIST версии 1.1 (приложение G).

3.2.9. Алгоритмы модификации дозы для иммуноонкологических средств.

Имуноонкологические средства ассоциированы с АЕ, которые могут отличаться по тяжести и длительности по сравнению с АЕ, вызываемыми другими классами терапевтических средств. NuAB1 и ниволумаб считают иммуноонкологическими средствами в этом протоколе. Ранее распознавание и лечение АЕ, ассоциированных иммуноонкологическими средствами, могут снижать тяжелую токсичность. Разработаны алгоритмы лечения для помощи исследователям в оценке и лечении следующих классов АЕ: желудочно-кишечных, почечных, легочных, печеночных, эндокринопатий, кожных, неврологических, инфузионной реакции, перiorбитального отека, увеита.

3.2.10. Лечение связанных с NuAB1 и ниволумабом инфузионных реакций.

NuAB1 и ниволумаб могут индуцировать инфузионные реакции или реакции гиперчувствительности. Если развились такие реакции, они могут проявляться повышением температуры, ознобом, дрожью, головной болью, сыпью, зудом, артралгией, гипо- или гипертензией, бронхоспазмом или другими симптомами.

Инфузионные реакции необходимо классифицировать по руководствам СТСАЕ версии 4.03. О любой инфузионной реакции степени 3 или 4 в течение 24 ч необходимо сообщать назначенному спонсором медицинскому наблюдателю и сообщать о ней как о SAE, если она соответствует критериям.

Инфузию ниволумаба будут проводить первой с 30-минутным интервалом между 2 инфузиями с последующей 30-минутной инфузией HuAB1. Может быть непонятно, вызвана ли инфузионная реакция HuAB1, ниволумабом или обоими исследуемыми лекарственными средствами. Таким образом, ниже представлен один из наборов рекомендаций по лечению (основанных на наиболее консервативном лечении инфузионных реакций по причине любого исследуемого лекарственного средства), и его можно модифицировать с учетом клинической оценки, местных стандартов и руководств по лечению и/или конкретных симптомов, при необходимости.

В случае симптомов степени 1: (слабая реакция [например, локализованные кожные реакции, включая слабый зуд, покраснение, сыпь], требующая снижения скорости инфузии; может быть показано вмешательство).

Снижение скорости инфузии исследуемого лекарственного средства до прекращения симптомов.

Необходимо оставаться у постели пациента и мониторировать основные показатели жизнедеятельности пациента до разрешения симптомов. По решению лечащего врача можно вводить дифенгидрамин 50 мг.

Если симптомы разрешены, возобновляют инфузию с исходной скоростью.

Если пациент имеет инфузионную реакцию на ниволумаб, можно вводить huAB1 (без профилактических лекарственных средств), если инфузионная реакция разрешается в течение 3 ч. В целях соблюдения схемы инфузию HuAB1 можно проводить на следующий день. Профилактические прединфузионные лекарственные средства необходимо вводить перед всеми последующими инфузиями ниволумаба.

Если пациент имеет инфузионную реакцию на HuAB1, профилактические прединфузионные лекарственные средства необходимо вводить перед всеми последующими инфузиями HuAB1 и ниволумаба.

Рекомендуют следующие профилактические прединфузионные лекарственные средства перед дальнейшими инфузиями HuAB1 и ниволумаба: дифенгидрамин 50 мг (или эквивалент) и/или парацетамол (ацетаминофен) от 325 до 1000 мг по меньшей мере за 30 мин до дальнейшего введения исследуемого лекарственного средства.

В случае симптомов степени 2: (в случае умеренной реакции [т.е. любого симптома, не указанного выше (слабые симптомы) или ниже (тяжелые симптомы), такого как генерализованный зуд, покраснение, сыпь, одышка, гипотензия с систолическим артериальным давлением >80 мм рт.ст.] необходимо прерывание инфузии, но она быстро отвечает на симптоматическое лечение [например, антигистаминные средства, нестероидные противовоспалительные лекарственные средства, наркотические вещества, кортикостероиды, жидкости для IV]; профилактические прединфузионные лекарственные средства, показанные в течение ≤24 ч).

Прерывают инфузию исследуемого лекарственного средства.

Начинают IV инфузию нормального физиологического раствора и лечат пациента дифенгидрамином 50 мг IV (или эквивалентом) и/или парацетамолом (ацетаминофеном) от 325 до 1000 мг.

Необходимо оставаться у постели пациента и мониторировать основные показатели жизнедеятельности пациента до разрешения симптомов. По решению лечащего врача можно проводить терапию кортикостероидами.

Если симптомы разрешены, возобновляют инфузию при 50% исходной скорости инфузии; если через 30 мин не происходит дальнейших осложнений, скорость можно повышать до 100% от исходной скорости инфузии.

Тщательно мониторировать пациента. Если симптомы рецидивируют, незамедлительно прекращают инфузию; в это посещение далее не будут вводить исследуемое лекарственное средство. Вводят дифенгидрамин 50 мг IV, и необходимо оставаться у постели пациента и мониторировать его до разрешения симптомов.

Если пациент имеет инфузионную реакцию на инфузию ниволумаба, можно проводить инфузию HuAB1 (без профилактических лекарственных средств), если инфузионная реакция разрешается в течение 3 ч. В целях планирования инфузию HuAB1 можно проводить на следующий день. Профилактические прединфузионные лекарственные средства необходимо вводить перед всеми последующими инфузиями ниволумаба.

Если пациент имеет инфузионную реакцию на HuAB1, профилактические прединфузионные лекарственные средства необходимо вводить перед всеми последующими инфузиями HuAB1 и ниволумаба.

Рекомендуют следующие профилактические прединфузионные лекарственные средства перед дальнейшими инфузиями HuAB1 и ниволумаба: необходимо вводить дифенгидрамин 50 мг (или эквивалент) и/или парацетамол (ацетаминофен) от 325 до 1000 мг по меньшей мере за 30 мин до дальнейшего введения исследуемого лекарственного средства. При необходимости, можно использовать кортикостероиды (до 25 мг SoluCortef или эквивалента).

Необходимо регистрировать инфузируемое количество исследуемого лекарственного средства.

В случае симптомов степени 3 или степени 4: (тяжелая реакция, такая как бронхоспазм, генерализо-

ванная крапивница, систолическое артериальное давление <80 мм рт.ст. или отек Квинке; симптомы степени 3, включая длительный симптом, в случае которого необходимо 6 или более ч для ответа на симптоматическое лекарственное средство и/или прекращение инфузии; рецидивирование симптомов после исходного улучшения; госпитализация, показанная по причине других клинических осложнений, таких как почечная недостаточность, легочные инфильтраты; степени 4, угрожающие жизни; показаны прессоры или поддерживающая вентиляция).

Незамедлительно прекращают инфузию исследуемого лекарственного средства. Далее не будут вводить исследуемое лекарственное средство. Необходимо регистрировать инфузируемое количество исследуемого лекарственного средства в CRF.

Начинают IV инфузию нормального физиологического раствора и лечат пациента следующим образом: рекомендуемые бронходилататоры, эпинефрин от 0,2 до 1,0 мг 1:1000 раствора для подкожного введения или от 0,1 до 0,25 мг 1:10000 раствора, медленно инъецируемого для введения IV, и/или дифенгидрамин 50 мг IV с метилпреднизолоном 100 мг IV (или эквивалент), по мере необходимости.

Необходимо оставаться у постели пациента и мониторировать основные показатели жизнедеятельности пациента до восстановления симптомов.

Пациента необходимо мониторировать до возникновения у исследователя уверенности в том, что симптомы не будут рецидивировать.

Исследователи должны следовать руководствам лечебного учреждения по лечению анафилаксии.

В случае поздних симптомов гиперчувствительности (например, появления локализованного или генерализованного зуда в течение 1 недели после лечения) можно проводить симптоматическое лечение (например, пероральные антигистаминные средства или кортикостероиды).

3.3. Способ распределения пациентов по исследуемым группам.

Пациенты должны быть способны давать письменное информированное согласие и соответствовать всем критериям пригодности. Никакой отказ от критериев включения или исключения не будет предоставляться спонсором или его уполномоченным лицом для любого пациента, включенного в исследование. Перед включением пациента должны быть удовлетворены все критерии пригодности.

Пациентов, отобранных для исследований фазы 1a, будут включать следующим образом.

Трех пациентов в когорте монотерапии фазы 1aM1 будут включать первыми для лечения 2 мг/кг HuAB1 каждые 14 дней в течение 28-дневного периода DLT.

После полного набора в указанную выше когорту монотерапии будут набирать когорту (1aC1) 3 новых пациентов для лечения 1 мг/кг HuAB1 в комбинации с 3 мг/кг ниволумаба каждые 14 дней в течение 28-дневного периода DLT.

Повышение дозы в когорте монотерапии 4 мг/кг huAB1 (1aM2) будут осуществлять после окончания периода DLT в когорте монотерапии 2 мг/кг huAB1 (1aM1).

Повышение дозы HuAB1 в комбинации с ниволумабом будут осуществлять до возникновения DLT в когортах монотерапии HuAB1 или комбинации HuAB1 с ниволумабом после обсуждения и достижения согласия между исследователями и назначенным спонсором медицинским наблюдателем.

В фазе 1b будут включать приблизительно 30 пациентов на когорту. Включение в исследование будут начинать для всех когорт параллельно и будут продолжать его до достижения целевого количества включенных в исследование. После полного набора когорты, дальнейшее включение в исследование будет ограничено еще не набранными полностью когортами. Всего в исследования фазы 1b будут включать приблизительно 240 пациентов.

Исследователь может повторять отборочные лабораторные тесты и определения основных показателей жизнедеятельности/ЭКГ перед включением в исследование, если несоответствующие отборочным результаты считают ошибкой, или кратковременный результат, вероятно, будет соответствовать критериям пригодности после повторного тестирования.

3.4. Маскирование/демаскирование.

Настоящее исследование является открытым исследованием, и в течение него не будут проводить маскирование или демаскирование пациентов.

4. Исследовательские оценки и процедуры.

4.1. Схема оценок.

Таблицы схемы оценок приложены к протоколу как приложения А, В и С.

4.2. Исследовательские процедуры при посещениях.

4.2.1. Монотерапия фазы 1a.

4.2.1.1. Период скрининга (со дня -28 до дня 0).

Пациентов, полностью согласных на участие в исследовании, будут подвергать скрининговым оценкам в течение 28 дней (4 недель) перед проведением первой инфузии HuAB1 (если не указано иначе). Для определения соответствия пациента всем критериям включения и отсутствия нарушений каких-либо критериев исключения будут осуществлять следующие процедуры (приложение А).

Письменное подписанное информированное согласие необходимо получать перед любыми связанными с исследованием процедурами.

Сбор полного анамнеза пациента и анамнеза заболевания.

Сбор демографических и исходных характеристик.

Полный физикальный осмотр, включая определение роста и массы тела.

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха).

Оценка функционального статуса по ECOG.

Лабораторный скрининг (как описано в приложении А, сноске g).

Определение лабораторных признаков клинической безопасности (как описано в приложении А, сноске h).

ЭКГ в 12 отведениях (необходимая при скрининге, и если клинически показано, в течение исследования).

Рентгенологическая визуализация: КТ/МРТ необходимо осуществлять в течение 28 дней перед первой инфузией НуАВ1. Если МРТ осуществляют как часть стандарта лечения пациента в течение 28 дней после первой исследовательской инфузии, можно не повторять его, если представлены задокументированные результаты, и они подходят для оценки.

Сывороточный тест на беременность (β -hCG) для женщин репродуктивного возраста.

Биопсия (для анализов, описываемых в приложении D).

Регистрация SAE, при необходимости.

Документирование предшествующей и сопутствующей медикаментозной терапии.

4.2.1.2. День 1 цикла 1.

Будут осуществлять следующие процедуры.

Перед инфузией НуАВ1 (в течение ≤ 72 ч, если не указано иначе)

подтверждение пригодности,

обновление анамнеза пациента и анамнеза заболевания для регистрации любых изменений, выявленных при скрининге,

физикальный осмотр, включая определение массы тела,

определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха),

оценка функционального статуса по ECOG,

определение лабораторных признаков клинической безопасности (как описано в приложении А, сноске h); результаты необходимо рассматривать перед введением дозы),

определение β -hCG в сыворотке (определяемого местными лабораториями) будут осуществлять перед введением первой дозы НуАВ1 только женщинам репродуктивного возраста.

Сбор крови:

Сыворотка (для анализов, описываемых в приложении D, за исключением анализов ниволумаба).

Цельная кровь (для анализов, описываемых в приложении D).

Замороженные РВМС (для анализа фенотипа Т-клеток).

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

Введение исследуемого лекарственного средства: НуАВ1 посредством IV инфузии в течение 30 мин. После введения НуАВ1

основные показатели жизнедеятельности после введения дозы (частота сердечных сокращений, артериальное давление и температура в положении лежа после 5-минутного отдыха) в следующие временные точки после завершения IV инфузии: 5 мин, 15 мин, 30 мин и 1 ч 15 мин (± 5 мин), после введения дозы: сбор крови для получения сыворотки (для РК НуАВ1) 4 ч (± 60 мин), после введения дозы: сбор крови для получения сыворотки (для РК НуАВ1).

4.2.1.3. День 2 цикла 1.

Исследуемые пациенты будут возвращаться в исследовательский центр в день 2 для 24-часовых оценок (± 6 ч) после введения дозы. В течение этого посещения не будут вводить лекарственные средства, но будут осуществлять следующие оценки.

Сбор крови:

Сыворотка (для РК НуАВ1 и мультиплексной цитокиновой панели).

Цельная кровь (для анализа экспрессии генов).

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

4.2.2.4. День 4 цикла 1.

Исследуемые пациенты будут возвращаться в исследовательский центр в день 4 для 72-часовых (± 12 ч) оценок после введения дозы. В течение этого посещения не будут вводить лекарственные средства, но будут осуществлять следующие оценки:

Сбор крови

Сыворотка (для РК НуАВ1).

Цельная кровь (для анализов CD14+/CD16+ моноцитов и экспрессии генов).

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

4.2.1.5. День 8 цикла 1.

Исследуемые пациенты будут возвращаться в исследовательский центр в день 8 для 168-часовых оценок (± 24 ч) после введения дозы. В течение этого посещения не будут вводить лекарственные средства, но будут осуществлять следующие оценки.

Физикальный осмотр.

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха).

Определение лабораторных признаков клинической безопасности (как описано в приложении А, сноске h).

Сбор крови:

Сыворотка (для РК NuAB1 и мультиплексной цитокиновой панели).

Цельная кровь (для анализов CD14+/CD16+ моноцитов и экспрессии генов).

Замороженные РВМС (для анализа фенотипа Т-клеток).

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

4.2.1.6. День 1 цикла 2.

Будут осуществлять следующие процедуры.

Перед инфузией NuAB1 (в течение ≤ 72 ч, если не указано иначе)

Физикальный осмотр, включая определение массы тела.

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха).

Оценка функционального статуса по ECOG.

Определение лабораторных признаков клинической безопасности (как описано в приложении А, сноске h; результаты необходимо рассматривать перед введением дозы).

Сбор крови:

Сыворотка (для анализов, описываемых в приложении D, за исключением анализов ниволумаба).

Цельная кровь (для анализов, описываемых в приложении D, за исключением панели MDSC).

Замороженные РВМС (для анализа фенотипа Т-клеток).

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

Введение исследуемого лекарственного средства: NuAB1 посредством IV инфузии в течение 30 мин.

После введения NuAB1.

После введения дозы определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха) в следующие временные точки после завершения IV инфузии: 5 мин, 15 мин, 30 мин и 1 ч 15 мин (± 5 мин) после введения дозы: сбор крови для получения сыворотки (для РК NuAB1).

4.2.1.7. Окончание цикла 2.

Для пациентов фазы 1a в когорте монотерапии, если заканчивают цикл 2, исследователь определяет, может ли пациент получать пользу от продолжения введения NuAB1, и можно предлагать включение в расширенный период лечения.

Если пациента включают в расширенный период лечения (цикл 3 и далее), переходят к процедурам, приведенным в разделе 6.2.1.8.

Если пациента не отбирают для введения дополнительных доз NuAB1, пациент будет возвращаться в клинику для посещения для завершения/раннего прекращения лечения, описанного в разделе 6.2.1.9.

4.2.1.8. Расширенный период лечения - день 1 цикла 3 и последующих циклов.

Расширенный период лечения фазы 1a для пациентов в когорте монотерапии можно начинать в день 1 цикла 3 (день 29 исследования). Введение будут прекращать, если пациент испытывает прогрессирование заболевания или неприемлемую токсичность.

При каждом посещении для инфузии пациенты должны оставаться в исследовательском учреждении после каждого введения NuAB1 до завершения всех оценок для мониторинга безопасности после введения дозы. При каждом посещении будут осуществлять следующие оценки, если не указано иначе (приложение А).

Перед каждой инфузией исследуемого лекарственного средства (в течение 72 ч, если не указано иначе)

Физикальный осмотр, включая определение массы тела.

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха).

Оценка функционального статуса по ECOG.

Определение лабораторных признаков клинической безопасности (как описано в приложении А, сноске h; результаты необходимо рассматривать перед введением дозы).

Рентгенологическая визуализация: сканирование КТ/МРТ, осуществляемое каждые 8 недель в течение первых 12 месяцев для пациентов, лечение которых продолжают (и каждые 12 недель впоследствии) и 28 дней (± 7 дней) после введения последней дозы исследуемого лекарственного средства.

Биопсия (исключительно перед циклом 3; для анализов, описываемых в приложении D).

Сбор крови

Сыворотка (для анализов, описываемых в приложении D) со следующими исключениями:

PK huAB1 для циклов 3, 5, 9, 13 и 21.

ADA huAB1 для циклов 3, 5, 13 и 21.

ANA для циклов 3, 5, 9, 13, 21, затем каждые 6 циклов во время лечения.

CSF1 и ИЛ-34 для циклов 3 и 9.

Мультиплексная цитокиновая панель для циклов 3, 9 и 21.

Цельная кровь (для анализов, описываемых в приложении D) со следующими исключениями:

CD14+/CD16+ моноциты для цикла 3 и 9.

Панель MDSC исключительно для цикла 3.

Анализ экспрессии генов для цикла 3, 5, 9, 13 и 21.

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

Введение исследуемого лекарственного средства: NuAB1 посредством IV инфузии в течение 30 мин.

После введения NuAB1.

После введения дозы

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха) в следующие временные точки после завершения IV инфузии: 5 мин, 15 мин, 30 мин и 1 ч 15 мин (± 5 мин) после введения дозы

сбор крови для получения сыворотки (для анализов, описываемых в приложении D) со следующими исключениями:

PK huAB1 исключительно для цикла 8.

4.2.1.9. Посещение для завершения или раннего прекращения лечения.

Пациенты будут возвращаться в исследовательский центр через приблизительно 28 (± 7) дней после последней инфузии NuAB1.

Будут осуществлять следующие оценки.

Физикальный осмотр, включая определение массы тела.

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериальное давление, пульс, частота дыхания и температура в положении лежа после 5-минутного отдыха).

Оценку функционального статуса по ECOG.

Определение лабораторных признаков клинической безопасности (как описано в приложении А, сноске h).

ЭКГ в 12 отведениях.

Рентгенологическая визуализация: можно не повторять сканирование КТ/МРТ если его осуществляли в течение 8 недель перед посещением для завершения/раннего прекращения лечения или ранее определяли прогрессирование опухоли.

Сывороточный тест на беременность (β -hCG), при необходимости.

Биопсия для пациентов с прогрессированием (для анализов, описываемых в приложении D).

Сбор крови

Сыворотка (для анализов, описываемых в приложении D, за исключением анализов ниволумаба).

Цельная кровь (исключительно для анализа CD14⁺/CD16⁺ моноцитов и анализа экспрессии генов).

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

4.2.2. Повышение дозы комбинации фазы 1a.

4.2.2.1. Период скрининга (со дня -28 до дня 0).

Пациентов, полностью согласных на участие в исследовании, будут подвергать скрининговым оценкам в течение 28 дней (4 недели) перед проведением первой инфузии NuAB1 и ниволумаба (если не указано иначе). Для определения соответствия пациента всем критериям включения и отсутствия нарушений каких-либо критериев исключения будут осуществлять следующие процедуры (приложение B).

Письменное подписанное информированное согласие необходимо получать перед любыми связанными с исследованием процедурами.

Сбор полного анамнеза пациента и анамнеза заболевания.

Сбор демографических и исходных характеристик.

Полный физикальный осмотр, включая определение роста и массы тела.

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха).

Оценка функционального статуса по ECOG.

Лабораторный скрининг (как описано в приложении В, сноске g).

Определение лабораторных признаков клинической безопасности (как описано в приложении В, сноске h).

ЭКГ в 12 отведениях (необходимая при скрининге и если клинически показано в течение исследования).

Рентгенологическая визуализация: КТ/МРТ необходимо осуществлять в течение 28 дней перед днем 1 цикла 1. Если КТ/МРТ осуществляют как часть стандарта лечения пациента в течение 28 дней после цикла 1, день 1, можно не повторять его, если представлены задокументированные результаты, и они соответствуют RECIST версии 1.1.

Сывороточный тест на беременность (β -hCG), ≤ 5 дней перед днем 1 цикла 1 для женщин репродуктивного возраста.

Биопсия (для анализов, описываемых в приложении D).

Регистрация SAE, при необходимости.

Документирование предшествующей и сопутствующей медикаментозной терапии.

4.2.2.2. День 1 цикла 1.

Будут осуществлять следующие процедуры.

Перед инфузией НуАВ1 и ниволумаба (в течение ≤ 72 ч, если не указано иначе)

подтверждение пригодности,

обновление анамнеза пациента и анамнеза заболевания для регистрации любых изменений, выявленных при скрининге,

физикальный осмотр, включая определение массы тела,

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха; пульсоксиметрия в покое и после нагрузки),

оценка функционального статуса по ECOG,

определение лабораторных признаков клинической безопасности (как описано в приложении В, сноске h; результаты необходимо рассматривать перед введением дозы),

β -hCG в сыворотке (определяемый местными лабораториями) будут осуществлять перед введением первой дозы исследуемого лекарственного средства только женщинам репродуктивного возраста.

Сбор крови.

Сыворотка (для анализов, описываемых в приложении D).

Цельная кровь (для анализов, описываемых в приложении D).

Замороженные РВМС (для анализа фенотипа Т-клеток).

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

Введение исследуемого лекарственного средства: каждый из НуАВ1 и ниволумаба будут вводить посредством IV инфузии в течение 30 мин. Ниволумаб будут вводить первым с 30-минутным интервалом между 2 инфузиями с последующей 30-минутной инфузией НуАВ1.

После введения huАВ1 и ниволумаба

определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха) после введения дозы в следующие временные точки после завершения каждой IV инфузии:

5 мин и 15 мин после введения дозы ниволумаба,

5 мин, 15 мин, 30 мин и 1 ч после введения дозы НуАВ1,

15 мин (± 5 мин) после введения дозы НуАВ1

сбор крови для получения сыворотки (для анализа РК НуАВ1 и ниволумаба)

4 ч (± 60 мин) после введения дозы НуАВ1:

сбор крови для получения сыворотки (исключительно для РК НуАВ1).

4.2.2.3. День 2 цикла 1.

Исследуемые пациенты будут возвращаться в исследовательский центр в день 2 для 24-часовых (± 6 ч) оценок после введения дозы. В течение этого посещения не будут вводить лекарственные средства, но будут осуществлять следующие оценки.

Сбор крови

Сыворотка (для РК НуАВ1 и мультиплексной цитокиновой панели).

Цельная кровь (для анализа экспрессии генов).

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

4.2.2.4. День 4 цикла 1.

Исследуемые пациенты будут возвращаться в исследовательский центр в день 4 для 72-часовых оценок (± 12 ч) после введения дозы. В течение этого посещения не будут вводить лекарственные средства, но будут осуществлять следующие оценки.

Сбор крови

Сыворотка (исключительно для анализа РК).

Цельная кровь (для анализов CD14+/CD16+ моноцитов и экспрессии генов).

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

4.2.2.5. День 8 цикла 1.

Исследуемые пациенты будут возвращаться в исследовательский центр в день 8 для 168-часовых (± 24 ч) оценок после введения дозы. В течение этого посещения не будут вводить лекарственные средства, но будут осуществлять следующие оценки.

Физикальный осмотр.

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха; пульсоксиметрия в покое и после нагрузки).

Определение лабораторных признаков клинической безопасности (как описано в приложении В, сноске h).

Сбор крови

Сыворотка (для РК HuAB1 и мультиплексной цитокиновой панели).

Цельная кровь (для анализов CD14+/CD16+ моноцитов и экспрессии генов).

Замороженные РВМС (для анализа фенотипа Т-клеток).

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

4.2.2.6. День 1 цикла 2.

Будут осуществлять следующие процедуры.

Перед инфузией huAB1 и ниволумаба (в течение ≤ 72 ч, если не указано иначе)

Физикальный осмотр, включая определение массы тела.

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха; пульсоксиметрия в покое и после нагрузки).

Оценка функционального статуса по ECOG.

Определение лабораторных признаков клинической безопасности (как описано в приложении В, сноске h; результаты необходимо рассматривать перед введением дозы).

Сбор крови

Сыворотка (для анализов, описываемых в приложении D).

Цельная кровь (для анализов, описываемых в приложении D, за исключением панели MDSC).

Замороженные РВМС (для анализа фенотипа Т-клеток).

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

Введение исследуемого лекарственного средства: каждый из HuAB1 и ниволумаба будут вводить посредством IV инфузии в течение 30 мин. Ниволумаб будет вводить первым с 30-минутным интервалом между 2 инфузиями, а затем HuAB1.

После введения huAB1 и ниволумаба.

После введения дозы определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха) в следующие временные точки после завершения IV инфузии

5 мин и 15 мин после введения дозы ниволумаба,

5 мин, 15 мин, 30 мин и 1 ч после введения дозы HuAB1,

15 мин (± 5 мин) после введения дозы HuAB1

Сбор крови для получения сыворотки (исключительно для анализа РК HuAB1).

4.2.2.7. Окончание цикла 2.

Для пациентов фазы 1a в когорте комбинации, если заканчивают цикл 2, исследователь определяет, может ли пациент получать пользу от продолжения введения HuAB1 и ниволумаба и можно предлагать включение в расширенный период лечения.

Если пациента включают в расширенный период лечения (цикл 3 и далее), переходят к процедурам, приведенным в разделе 6.2.2.8.

Если пациента не отбирают для введения дополнительных доз HuAB1, пациент будет возвращаться в клинику для посещения для завершения/раннего прекращения лечения, описанного в разделе 6.2.2.9.

4.2.2.8. Расширенный период лечения - день 1 цикла 3 и последующих циклов.

Расширенный период лечения фазы 1a для пациентов в когортах повышения дозы комбинации

можно начинать в день 1 цикла 3 (день 29 исследования).

При каждом посещении для инфузии пациентки должны оставаться в исследовательском учреждении после каждого введения HuAB1 и ниволумаба до завершения всех оценок для мониторинга безопасности после введения дозы. При каждом посещении будут осуществлять следующие оценки, если не указано иначе (приложение В).

Перед каждой инфузией исследуемых лекарственных средств (в течение ≤ 72 ч, если не указано иначе)

Физикальный осмотр, включая определение массы тела.

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха; пульсоксиметрия в покое и после нагрузки).

Оценка функционального статуса по ECOG.

Определение лабораторных признаков клинической безопасности (как описано в приложении В, сноске h; результаты необходимо рассматривать перед введением дозы).

Рентгенологическая визуализация: сканирование КТ/МРТ, осуществляемое каждые 8 недель в течение первых 12 месяцев для пациентов, лечение которых продолжают (и каждые 12 недель впоследствии) и 28 дней (± 7 дней) после введения последней дозы исследуемого лекарственного средства.

Биопсия (для анализов, описываемых в приложении D).

Сбор крови

Сыворотка (для анализов, описываемых в приложении D) со следующими исключениями:

PK huAB1 исключительно для циклов 3, 5, 9, 13 и 21.

PK ниволумаба исключительно для циклов 3, 5, 9, 13 и 21.

ADA huAB1 и ниволумаба исключительно для циклов 3, 5, 13 и 21.

ANA для циклов 3, 5, 9, 13, 21, затем каждые 6 циклов во время лечения.

CSF1, ИЛ-34 исключительно для цикла 3 и 9.

Мультиплексная цитокиновая панель исключительно для циклов 3, 9 и 21.

Цельная кровь (для анализов, описываемых в приложении D) со следующими исключениями:

CD14+/CD16+ исключительно для цикла 3 и 11.

Панель миелоидных супрессорных клеток исключительно для цикла 3.

Анализ экспрессии генов исключительно для цикла 3, 5, 9, 13 и 21.

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

Введение исследуемого лекарственного средства: каждый из HuAB1 и ниволумаба будут вводить посредством IV инфузии в течение 30 мин. Ниволумаб будут вводить первым с 30-минутным интервалом между 2 инфузиями, а затем HuAB1.

После введения huAB1 и ниволумаба

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха) после введения дозы в следующие временные точки после завершения IV инфузии:

5 мин и 15 мин после введения дозы ниволумаба,

5 мин, 15 мин, 30 мин и 1 ч после введения дозы HuAB1,

15 мин (± 5 мин) после введения дозы HuAB1.

Сбор крови для получения сыворотки (для анализов, описываемых в приложении D) со следующими исключениями:

huAB1 и ниволумаб РК исключительно для цикла 8.

4.2.2.9. Посещение для завершения или раннего прекращения лечения.

Пациенты будут возвращаться в исследовательский центр приблизительно через 28 (± 7) дней после последней инфузии HuAB1 и ниволумаба или в случае преждевременного завершения участия пациента в исследовании.

Будут осуществлять следующие оценки:

Физикальный осмотр, включая определение массы тела.

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха; пульсоксиметрия в покое и после нагрузки).

Оценка функционального статуса по ECOG.

Определение лабораторных признаков клинической безопасности (как описано в приложении В, сноске h).

ЭКГ в 12 отведениях.

Рентгенологическая визуализация: можно не повторять сканирование КТ/МРТ если его осуществляли в течение 8 недель перед посещением для завершения/раннего прекращения лечения или ранее определяли прогрессирование опухоли.

Сывороточный тест на беременность (β -hCG), при необходимости.

Биопсия для пациентов с прогрессированием (для анализов, описываемых в приложении D).

Сбор крови

Сыворотка (для анализов, описываемых в приложении D).

Цельная кровь (исключительно для анализа CD14+/CD16+ моноцитов и экспрессии генов посредством секвенирования РНК).

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

4.2.3. Фаза расширения количества пациентов, которых лечили максимально переносимой дозой комбинации фазы 1b.

4.2.3.1. Период скрининга (со дня -28 до дня 0).

Пациентов, полностью согласных на участие в исследовании, будут подвергать скрининговым оценкам в течение 28 дней (4 недели) перед проведением первой инфузии НуАВ1 и ниволумаба (если не указано иначе). Для определения соответствия пациента всем критериям включения и отсутствия нарушений каких-либо критериев исключения будут осуществлять следующие процедуры (приложение В).

Письменное подписанное информированное согласие необходимо получать перед любыми связанными с исследованием процедурами.

Полный анамнез пациента и анамнез заболевания.

Демографические и исходные характеристики.

Полный физикальный осмотр, включая определение роста и массы тела.

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха; пульсоксиметрия в покое и после нагрузки).

Оценка функционального статуса по ECOG.

Лабораторный скрининг (как описано в приложении В, сноске g).

Определение лабораторных признаков клинической безопасности (как описано в приложении В, сноске h).

ЭКГ в 12 отведениях (необходимая при скрининге, и если клинически показано в течение исследования).

Рентгенологическая визуализация: КТ/МРТ необходимо осуществлять в течение 28 дней перед первой инфузией исследуемого лекарственного средства. Если МРТ осуществляют как часть стандарта лечения пациента в течение 28 дней после первой инфузии исследуемого лекарственного средства, можно не повторять его, если представлены задокументированные результаты, и они соответствуют RECIST версии 1.1.

Сывороточный тест на беременность (β -hCG), ≤ 5 дней перед днем 1 цикла 1 для женщин репродуктивного возраста.

Биопсия (для анализов, описываемых в приложении D).

Регистрация SAE, при необходимости.

Документирование предшествующей и сопутствующей медикаментозной терапии.

4.2.3.2. День 1 цикла 1.

Будут осуществлять следующие процедуры:

Перед инфузией НуАВ1 и ниволумаба (в течение ≤ 72 ч, если не указано иначе)

Подтверждение пригодности.

Обновление анамнеза пациента и анамнеза заболевания для регистрации любых изменений, выявленных при скрининге.

Физикальный осмотр, включая определение массы тела.

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха; пульсоксиметрия в покое и после нагрузки)

Оценка функционального статуса по ECOG.

Определение лабораторных признаков клинической безопасности (как описано в приложении В, сноске h; результаты необходимо рассматривать перед введением дозы).

Определение β -hCG в сыворотке (определяемого местными лабораториями) будут осуществлять перед введением первой дозы исследуемого лекарственного средства только женщинам репродуктивного возраста.

Сбор крови

Сыворотка (для анализов, описываемых в приложении D).

Цельная кровь (для анализов, описываемых в приложении D).

Замороженные РВМС (для анализа фенотипа Т-клеток).

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

Введение исследуемого лекарственного средства: каждый из НuAB1 и ниволумаба будут вводить посредством IV инфузии в течение 30 мин. Ниволумаб будут вводить первым с 30-минутным интервалом между 2 инфузиями, а затем НuAB1. После введения НuAB1 и ниволумаба

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха) после введения дозы в следующие временные точки после завершения IV инфузии:

5 мин и 15 мин после введения дозы ниволумаба,

5 мин, 15 мин, 30 мин и 1 ч после введения дозы НuAB1,

15 мин (± 5 мин) после введения дозы НuAB1.

Сбор крови для получения сыворотки (для анализа РК НuAB1 и ниволумаба),

4 ч (± 60 мин) после введения дозы НuAB1,

Сбор крови для получения сыворотки (исключительно для РК НuAB1).

4.2.3.3. День 2 цикла 1.

Исследуемые пациенты будут возвращаться в исследовательский центр в день 2 для 24-часовых (± 6 ч) оценок после введения дозы. В течение этого посещения не будут вводить лекарственные средства, но будут осуществлять следующие оценки:

Сбор крови

Сыворотка (для РК НuAB1 и мультиплексной цитокиновой панели).

Цельная кровь (для анализа экспрессии генов).

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

4.2.3.4. День 4 цикла 1.

Исследуемые пациенты будут возвращаться в исследовательский центр в день 4 для 72-часовых (± 12 ч) оценок после введения дозы. В течение этого посещения не будут вводить лекарственные средства, но будут осуществлять следующие оценки:

Сбор крови

Сыворотка (исключительно для анализа РК НuAB1).

Цельная кровь (для анализов CD14+/CD16+ моноцитов и экспрессии генов).

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

4.2.3.5. День 8 цикла 1.

Исследуемые пациенты будут возвращаться в исследовательский центр в день 8 для 168-часовых (± 24 ч) оценок после введения дозы. В течение этого посещения не будут вводить лекарственные средства, но будут осуществлять следующие оценки:

Физикальный осмотр.

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха; пульсоксиметрия в покое и после нагрузки).

Определение лабораторных признаков клинической безопасности (как описано в приложении В, сноске h).

Сбор крови

Сыворотка (для анализа РК НuAB1 и мультиплексной цитокиновой панели).

Цельная кровь (для анализов CD14+/CD16+ моноцитов и экспрессии генов).

Замороженные РВМС (для анализа фенотипа Т-клеток).

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

4.2.3.6. День 1 цикла 2.

Будут осуществлять следующие процедуры.

Перед инфузией НuAB1 и ниволумаба (в течение ≤ 72 ч, если не указано иначе)

Физикальный осмотр, включая определение массы тела.

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха; пульсоксиметрия в покое и после нагрузки).

Оценка функционального статуса по ECOG.

Определение лабораторных признаков клинической безопасности (как описано в приложении В, сноске h; результаты необходимо рассматривать перед введением дозы).

Сбор крови

Сыворотка (для анализов, описываемых в приложении D).

Цельная кровь (для анализов, описываемых в приложении D, за исключением панели MDSC).

Замороженные РВМС (для анализа фенотипа Т-клеток).

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

Введение исследуемого лекарственного средства: каждый из НuAB1 и ниволумаба будут вводить посредством IV инфузии в течение 30 мин. Ниволумаб будут вводить первым с 30-минутным интервалом между 2 инфузиями, а затем НuAB1.

После введения НuAB1 и ниволумаба

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха) после введения дозы в следующие временные точки после завершения IV инфузии:

5 мин и 15 мин после введения дозы ниволумаба,

5 мин, 15 мин, 30 мин и 1 ч после введения дозы НuAB1,

15 мин (± 5 мин) после введения дозы НuAB1.

Сбор крови для получения сыворотки (исключительно для РК НuAB1).

4.2.3.7. День 1 цикла 3 и последующих циклов.

При каждом посещении для инфузии пациенты должны оставаться в исследовательском учреждении после каждого введения НuAB1 и ниволумаба до завершения всех оценок для мониторинга безопасности после введения дозы. При каждом посещении будут осуществлять следующие оценки, если не указано иначе (приложение В):

Перед каждой инфузией исследуемых лекарственных средств (в течение <72 ч, если не указано иначе)

Физикальный осмотр, включая определение массы тела.

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха; пульсоксиметрия в покое и после нагрузки).

Оценка функционального статуса по ECOG.

Определение лабораторных признаков клинической безопасности (как описано в приложении В, сноске h; результаты необходимо рассматривать перед введением дозы).

Рентгенологическая визуализация: сканирование КТ/МРТ, осуществляемое каждые 8 недель в течение первых 12 месяцев для пациентов, лечение которых продолжают (и каждые 12 недель впоследствии), и 28 дней (± 7 дней) после введения последней дозы исследуемого лекарственного средства.

Биопсия (для анализов, описываемых в приложении D).

Сбор крови

Сыворотка (для анализов, описываемых в приложении D) со следующими исключениями:

Анализ РК НuAB1 исключительно для циклов 3, 5, 9, 13 и 21.

Анализ РК ниволумаба исключительно для циклов 3, 5, 9, 13 и 21.

ADA НuAB1 и ниволумаба исключительно для циклов 3, 5, 13 и 21.

ANA для циклов 3, 5, 9, 13, 21, затем каждые 6 циклов во время лечения.

CSF1, ИЛ-34 исключительно для цикла 3 и 9.

Мультиплексная цитокиновая панель исключительно для циклов 3, 9 и 21.

Цельная кровь (для анализов, описываемых в приложении D) со следующими исключениями:

Анализ CD14+/CD16+ моноцитов исключительно для цикла 3 и 9.

Панель MDSC исключительно для цикла 3.

Анализ экспрессии генов исключительно для цикла 3, 5, 9, 13 и 21.

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

Введение исследуемого лекарственного средства: каждый из НuAB1 и ниволумаба будут вводить посредством IV инфузии в течение 30 мин. Ниволумаб будут вводить первым с 30-минутным интервалом между 2 инфузиями, а затем НuAB1.

После введения НuAB1 и ниволумаба

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха) после введения дозы в следующие временные точки после завершения IV инфузии:

5 мин и 15 мин после введения дозы ниволумаба,

5 мин, 15 мин, 30 мин и 1 ч после введения дозы НuAB1,

15 мин (± 5 мин) после введения дозы НuAB1.

Сбор крови для получения сыворотки (для анализов, описываемых в приложении D) со следующими исключениями:

Анализ РК НuAB1 и ниволумаба исключительно для цикла 8.

4.2.3.8. Посещение для завершения или раннего прекращения лечения.

Пациенты будут возвращаться в исследовательский центр приблизительно 28 (± 7) дней после последней инфузии НuAB1 и ниволумаба или в случае преждевременного завершения участия пациента в исследовании.

Будут осуществлять следующие оценки:

Физикальный осмотр, включая определение массы тела.

Определение основных показателей жизнедеятельности (артериального давления, пульса, частоты дыхания и температуры в положении лежа после 5-минутного отдыха; пульсоксиметрия в покое и после нагрузки).

Оценка функционального статуса по ECOG.

Определение лабораторных признаков клинической безопасности (как описано в приложении В, сноске h).

ЭКГ в 12 отведениях.

Рентгенологическая визуализация: можно не повторять сканирование КТ/МРТ если его осуществляли в течение 8 недель перед посещением для завершения/раннего прекращения лечения или ранее определяли прогрессирование опухоли.

Сывороточный тест на беременность (β -hCG).

Необязательная биопсия для пациентов с прогрессированием (для анализов, описываемых в приложении D).

Сбор крови

Сыворотка (для анализов, описываемых в приложении D).

Цельная кровь (исключительно для анализа CD14+/CD16+ моноцитов).

Регистрация АЕ, при необходимости.

Обзор сопутствующей медикаментозной терапии.

4.2.4. Последующее обследование и последующее обследование на выживаемость для всех пациентов.

После посещения для прекращения исследовательского лечения необходимо наблюдать каждый существующий АЕ до разрешения явления до исходной степени, пока исследователь не оценит явление как стабильное, пациент не потерял для последующего обследования, пациент не отозвал согласие, или определено, что исследуемое лекарственное средство не является причиной АЕ.

Возникновение SAE будут регистрировать до достижения 100 дней после введения последней дозы исследуемого лекарственного средства или до его разрешения. Затем будут регистрировать только SAE, определенные исследователем как связанные с исследуемым лекарственным средством.

Кроме того, сыворотку также будут собирать через 100 дней после введения последней дозы для анализа РК NuAB1, ADA NuAB1 и ADA ниволумаба.

Пациентов, прекративших исследовательское лечение по причинам, иным, чем прогрессирование заболевания, будут продолжать подвергать оценкам опухоли приблизительно каждые 8 недель (± 2 недели) с посещения для прекращения исследовательского лечения до прогрессирования заболевания.

После посещения для прекращения исследовательского лечения будут регистрировать противоопухолевую терапию всех пациентов (независимо от причины прекращения участия в исследовании) и их будут подвергать последующему обследованию на выживаемость каждые 3 месяца до момента смерти, утраты для последующего обследования, отзыва согласия или прекращения исследования спонсором.

В случае пациентов, отзывавших свое согласие на исследование, но согласившихся участвовать в последующем обследовании на выживаемость, будут собирать только информацию о выживаемости каждые 3 месяца.

4.3. Исследовательские оценки.

4.3.1. Оценки безопасности.

На исходном уровне будут собирать анамнез для фиксирования соответствующих основных условий. Исследования исходного уровня должны включать определение массы тела, роста, функционального статуса по ECOG (приложение G), ЭКГ, измерение артериального давления (BP), частоты сердечных сокращений (HR), температуры и насыщения кислородом посредством пульсоксиметрии в покое (а также мониторинга количества дополнительного кислорода, при необходимости) в течение 28 дней до введения первой дозы.

Оценки безопасности, включая гематологический анализ сыворотки, биохимический анализ, определение статуса по ECOG, массы тела и другие оценки, включая ЭКГ (при клинических показаниях), будут осуществлять как часть стандарта лечения при каждом посещении перед введением дозы, как указано в приложениях А, В и С. Пациента также будут мониторить на какие-либо связанные с инфузией АЕ в течение введения и, таким образом, обследовать впоследствии с учетом руководств в протоколе. Премедикационные средства, включая стероиды, антигистаминные средства или другие лекарственные средства, будут вводить по руководствам протокола перед последующим введением, если у пациента развиваются инфузионные реакции.

Любого пациента, которому вводили исследуемое лекарственное средство, будут оценивать на безопасность. Оценки токсичности будут непрерывными в течение фазы лечения и личных посещений для последующего обследования. После достижения пациентами фазы последующего обследования на выживаемость приемлемыми являются задокументированные телефонные звонки/электронные письма для

оценки состояния пациента.

АЕ и значения лабораторных показателей будут классифицировать в соответствии с СТСАЕ NCI версии 4.03.

При каждом посещении в период исследования необходимо оценивать насыщение кислорода посредством пульсоксиметрии в покое (также мониторировать количество дополнительного кислорода, при необходимости) перед введением дозы. Если у пациента наблюдаются изменения при пульсоксиметрии или другие дыхательные признаки (гипоксию, повышение температуры) или симптомы (например, одышку, кашель, повышение температуры), соответствующие возможным легочным АЕ, пациента необходимо незамедлительно оценивать для исключения по причине легочной токсичности в соответствии с таблицей лечения предполагаемой легочной токсичности в приложении Е.

Физикальные осмотры необходимо осуществлять по клиническим показаниям. Если есть какие-либо новые или ухудшившиеся клинически значимые изменения с момента последнего осмотра, необходимо регистрировать изменения на соответствующей странице несерьезных АЕ или SAE.

Дополнительные измерения, включая не требующиеся для исследования лабораторные тесты, необходимо осуществлять по клиническим показаниям или для выполнения местных нормативных требований. Токсичности в отношении результатов лабораторных тестов (например, оценки предполагаемых индуцируемых лекарственным средством ферментов печени) будут мониторировать в течение фазы последующего обследования местные лаборатории до разрешения всех связанных с исследуемым лекарственным средством токсичностей, возвращения к исходному уровню или условной стабилизации.

Некоторые из оценок, приведенных в этом разделе, можно не фиксировать в виде данных в CRF. Они предназначены для использования в качестве мониторинга безопасности лечащим врачом. Дополнительное тестирование или оценки можно осуществлять при клинической необходимости или по требованию нормативных актов учреждения или местных нормативных актов.

4.3.2. Оценки эффективности.

4.3.2.1. Основные параметры эффективности.

Основным параметром эффективности является частота объективных ответов (ORR; количество пациентов с подтвержденным ответом CR или PR, разделенное на общее количество подвергнутых лечению пациентов с измеримым заболеванием на исходном уровне). Статус ответа опухоли будут оценивать с использованием RECIST версии 1.1 (приложение F). Независимое рассмотрение оценок опухоли может потребоваться по решению спонсора.

4.3.2.2. Дополнительные параметры эффективности.

Дополнительные параметры эффективности могут включать следующие: общую выживаемость (OS, одногодичную OS и медианную OS), выживаемость без прогрессирования (PFS) и длительность ответа (DOR) у пациентов с подтвержденными ответами с учетом RECIST версии 1.1.

КТ/МРТ (грудной клетки, брюшной полости, таза и головного мозга) будут осуществлять по протоколу при скрининге, в течение лечения и в конце исследования/при раннем прекращении. Измерения изменения опухолевой массы необходимо рассматривать и документировать после каждого измерения.

4.3.2.3. Биопсия опухоли.

Биопсию в первичном очаге опухоли будут осуществлять при скрининге, а также через 29 дней в ходе лечения (перед днем 1 цикла 3) для всех пациентов фазы 1a и 10 пациентов на когорту в фазе 1b. Пациентам части исследования в фазе 1a также будут проводить биопсию после лечения после задокументированного прогрессирования опухоли. Эта биопсия после прогрессирования будет необязательной для пациентов в фазе 1b. Биоптаты будут оценивать на опухолеассоциированные лейкоциты, пролиферацию опухоли и маркеры гибели клеток.

4.3.3. Фармакокинетические оценки.

Образцы крови для оценки РК НуАВ1 и ниволумаба будут собирать у всех пациентов (фаза 1a и 1b).

Образцы крови будут собирать для измерения концентрации НуАВ1 в сыворотке в течение цикла 1 в дни 1, 2, 4 и 8. Образцы крови будут собирать до инфузии и в конце инфузии в случае цикла 2. Кроме того, образцы крови будут собирать в конце инфузии в случае цикла 8 и до инфузии в циклах 3, 5, 9, 13 и 21. Образец крови также будут собирать для анализа РК через 100 дней после введения последней дозы и при посещении для завершения/раннего прекращения лечения.

Будут получать образцы крови пациентов, включенных в исследование повышения дозы фазы 1a и фазу 1b, для измерения концентрации ниволумаба в сыворотке до и в конце инфузии в случае цикла 1. Кроме того, образцы крови будут собирать до инфузии в циклы 2, 3, 5, 9, 13 и 21. Образцы крови также будут собирать для анализа РК через 100 дней после введения последней дозы и при посещении для завершения/раннего прекращения лечения.

Стандартные параметры РК будут определять с учетом данных о концентрации НуАВ1 в сыворотке с течением времени, при необходимости. Будут оценивать потенциальные фармакокинетические взаимодействия лекарственных средств между НуАВ1 и ниволумабом.

4.3.3.1. Сбор и обработка образцов для фармакокинетического анализа.

Образцы крови будут собирать и обрабатывать для получения сыворотки по инструкциям, пред-

ставленным в отдельном лабораторном руководстве.

4.3.3.2. Фармакокинетический анализ образцов.

Концентрацию HuAB1 в сыворотке будут определять утвержденным способом ELISA. Концентрацию ниволумаба в сыворотке будут определять утвержденным способом ELISA.

4.3.4. Оценки иммуногенности.

Образцы крови будут собирать до инфузии в циклах 1, 2, 3, 5, 13 и 21, через 100 дней после введения последней дозы и при посещении для завершения/раннего прекращения лечения для измерения ADA HuAB1 и ниволумаба. ADA HuAB1 в сыворотке будут измерять посредством утвержденного мостикового ECLA с использованием технологии Meso Scale Discovery (MSD). ADA ниволумаба в сыворотке будут измерять утвержденным способом ELISA.

4.3.5. Оценки биомаркеров.

Множество факторов, с помощью которых потенциально можно прогнозировать клинический ответ на комбинацию HuAB1 и ниволумаба, будут исследовать в во всех образцах периферической крови и в образцах опухоли, полученных из пациентов до и в течение лечения. Данные этого исследования будут оценивать на ассоциацию с данными об ответе и/или безопасности (AE). Кроме того, посредством анализом маркеров между частями лечения будут получать необходимые данные для идентификации и валидации биомаркеров с прогностическим значением. Полные инструкции по сбору, обработке, обращению и транспортировке всех образцов, представленных в настоящем описании, будут представлены в руководстве по биомаркерам.

4.3.5.1. Образцы опухолевой ткани.

Образцы опухолевой ткани в форме погруженного в парафин блока или неокрашенных срезов будут подвергать централизованной оценке посредством ИНС. Эти биоптаты необходимо получать посредством эксцизионной, инцизионной или толстоигольной биопсии, т.к. тонкоигольные пунктаты или другие цитологические образцы недостаточны для последующих анализов биомаркеров. Образцы ткани собирают для оценки PD эффекта исследуемых лекарственных средств в отношении микроокружения опухоли. Эти образцы также можно подвергать секвенированию генов для определения эффекта исследуемых лекарственных средств в отношении генетических путей, а также идентификации генетических профилей, ассоциированных с резистентностью к ответу. Эти анализы могут помочь в прогнозировании будущего ответа на лечение. Краткое описание анализов, которые необходимо осуществлять, представлено в приложении D.

Биоптаты опухоли будут получать перед лечением, а также в ходе лечения, для исследования иммунных инфильтратов и экспрессии выбранных опухолевых маркеров. Опухолевую ткань, получаемую из этих образцов, будут разделять, при необходимости, между свежемороженым образцом для использования для анализа экспрессии генов и фиксированным формалином образцом для использования для ИНС.

Окрашенные тканевые срезы будут отправлять в центральную лабораторию, где патолог их будет оценивать и анализировать на положительность по PD-L1.

Образцы можно оценивать на экспрессию иммунных или связанных с заболеванием генов, РНК и/или белков, а также на наличие популяций иммунных клеток с использованием множества способов, включая в качестве неограничивающих примеров ИНС, qRT-ПЦР, определение генетических мутаций и флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH). Оценивают другие способы экспрессии опухолевых биомаркеров.

4.3.5.2. Сыворотка.

Образцы крови для исследовательских анализов биомаркеров сыворотки будут получать во временные точки, указанные в схеме оценок (приложения А, В, и С). Образцы крови будут обрабатывать для сбора сыворотки, а затем хранить в замороженном виде перед анализом. В дополнение к указанным выше анализам РК и ADA, образцы сыворотки будут анализировать для определения PD эффекта исследуемых лекарственных средств в отношении концентраций цитокинов и лиганда CSF1R. Образцы можно оценивать посредством ELISA, SEROMICS и/или других соответствующих мультиплексных способов анализа белка. Анализы маркеров сыворотки также могут помочь в установлении профиля биомаркеров, с помощью которых можно прогнозировать благоприятный эффект, или которые коррелируют с эффективностью, которые можно использовать для получения информации в этом и будущих исследованиях. Время сбора образцов указано в приложении С, и анализы, которые необходимо осуществлять, описаны в приложении D.

4.3.5.3. Оценка цельной крови на однонуклеотидные полиморфизмы (SNP).

Образцы цельной крови для исследовательской фармакогенетической оценки будут собирать у всех пациентов и хранить в замороженном виде перед анализом. Геномную ДНК будут выделять, а затем оценивать на однонуклеотидные полиморфизмы и другие генетические варианты генов-кандидатов, которые могут свидетельствовать о предрасположенности пациентов к благоприятному эффекту или АЕ. Дальнейшее использование этих данных может включать анализы корреляции с целью идентификации генотипических ассоциаций с клинически значимыми биомаркерами, идентифицированными другими способами, описываемыми в этом разделе.

4.3.5.4. Проточная цитометрия.

Перед лечением и в ходе лечения образцы будут анализировать посредством проточной цитометрии для исследования эффектов НуАВ1 и ниволумаба в отношении различных субпопуляций иммунных клеток периферической крови. Образцы цельной крови будут оценивать для подтверждения прогнозируемого PD эффекта НуАВ1 в отношении снижения CD16+ моноцитов. Образцы РВМС будут анализировать для определения того, будет ли блокада PD-1 в комбинации с направленным воздействием на CSF1R, влиять на активацию и функционирование периферических Т-клеток. Образцы РВМС можно оценивать на уровне миелоидных супрессорных клеток и фенотип моноцитов. Время сбора образцов указано в приложении С, и анализы, которые необходимо осуществлять, описаны в приложении D.

4.3.5.5. Определение профиля генной экспрессии.

Изменения профиля генной экспрессии в образцах опухоли будут оценивать посредством секвенирования РНК и qPCR с особым акцентом на пути иммунной функции. Все собранные образцы будут хранить, и их можно использовать для последующего исследования, относящегося к противоопухолевому иммунному ответу.

5. Статистические аспекты.

Все анализы будут описательными и их будут представлять по группе дозирования и в целом, при необходимости. Данные, собранные в этом исследовании, будут представлять с использованием итоговых таблиц и списков данных пациентов. Непрерывные переменные будут обобщены с использованием описательной статистики, в частности среднего, медианы, стандартного отклонения, минимума и максимума. Качественные переменные будут обобщены с помощью частот и процентных долей.

5.1. Определение размера выборки.

Приблизительно 30 пациентов будут включать в фазу 1a (повышение дозы); ожидают, что будут лечить от 3 до 6 пациентов в каждой когорте повышения дозы в соответствии с алгоритмом, приведенным на фиг. 6. В табл. 5 приведена вероятность повышения до когорты следующей дозы для различных истинных долей DLT.

Таблица 5

	Вероятность повышения дозы и дозолIMITирующие токсичности				
	Истинная доля DLT				
	1%	5%	10%	30%	50%
Вероятность повышения дозы	0,999	0,973	0,906	0,494	0,172

Частота объективных ответов является основной переменной эффективности для части исследования фазы 1b. При приблизительно 30 пациентах для каждого типа заболевания полуширина 95% доверительного интервала для доли соответствующего ответа будет составлять в пределах 18%.

5.2. Анализируемые выборки.

Вся включенная выборка: все пациенты, подписавшие ICF и зарегистрированные в IXRS.

Выборка для оценки безопасности: все пациенты, которым вводили по меньшей мере одну дозу НуАВ1 и/или ниволумаба.

Выборка для оценки РК: все пациенты, которым вводили по меньшей мере одну дозу НуАВ1, и имеющие доступные данные о концентрации в сыворотке, оцениваемые для определения профиля РК. У всех пациентов, которым вводили по меньшей мере одну дозу ниволумаба, будут определять пиковый и остаточный профиль РК.

Пациенты для оценки биомаркеров: все пациенты, которым вводили по меньшей мере одну дозу НуАВ1 и/или ниволумаба и имеющие доступные данные о биомаркерах.

Пациенты для оценки иммуногенности: все пациенты, которым вводили по меньшей мере одну дозу НуАВ1 и/или ниволумаба и имеющие доступные данные о ADA.

5.3. Конечные точки.

5.3.1. Конечные точки фазы 1a.

5.3.1.1. Первичные.

Безопасность.

Частота АЕ степени 3 и степени 4 и клинических отклонений лабораторных показателей, определенных как DLT.

Частота АЕ, клинических отклонений лабораторных показателей и аномалий ЭКГ.

5.3.1.2. Вторичные.

Фармакокинетика.

Следующие параметры РК будут получать из данных о концентрации НуАВ1 со временем по возможности и при необходимости. Также можно вычислять другие параметры, такие как зависимость от дозы и соотношение накопления. Потенциальное фармакокинетическое взаимодействие лекарственных средств между НуАВ1 и ниволумабом будут оценивать при необходимости.

Площадь под кривой концентрации в сыворотке-время (AUC).

Максимальная концентрация в сыворотке (C_{max}).

Минимальная концентрация в сыворотке (C_{min}).

Объем распределения в равновесном состоянии (V_{ss}) PK профиль пиковой и остаточной концентрации будут получать из данных о концентрации ниволумаба в сыворотке по возможности и при необходимости.

Иммуногенность.

Иммуногенность, определенную как иммунный ответ на NuAB1 или ниволумаб, будут оценивать посредством измерения общих антител против NuAB1 и общих антител против ниволумаба у всех пациентов. Тестирование иммуногенности будет состоять из скрининга, подтверждения и титрования в случае NuAB1 и ниволумаба.

Фармакодинамические биомаркеры.

Изменения субпопуляций моноцитов в цельной крови при проточной цитометрии.

Изменения уровней цитокинов при мультиплексном анализе.

Уровни экспрессии биомаркеров в биоптатах опухоли, измеряемые посредством ИНС.

5.3.1.3. Исследовательские.

Фармакодинамические биомаркеры.

Изменения уровней выбранных маркеров в сыворотке.

Изменения фенотипов периферических Т-клеток и других лейкоцитов при проточной цитометрии.

Уровни периферических MDSC при проточной цитометрии.

Изменения экспрессии генов в цельной крови или РВМС.

5.3.2. Конечные точки фазы 1b.

5.3.2.1. Первичные.

Эффективность.

Частоту объективных ответов (ORR) будут определять как общее количество пациентов с подтвержденными ответами CR или PR, разделенное на общее количество пациентов, ответ которых оценивают.

Безопасность.

Частота АЕ, SAE, клинических отклонений лабораторных показателей и отклонений ЭКГ.

Частота прекращения лечения, модификаций, прерываний по причине побочных эффектов.

АЕ степени 3 и степени 4 и клинические отклонения лабораторных показателей.

5.3.2.2. Вторичные.

Фармакокинетика.

Следующие параметры PK будут получать из данных о концентрации NuAB1 по возможности и при необходимости. Также можно вычислять другие параметры, такие как зависимость от дозы и соотношение накопления. Потенциальное фармакокинетическое взаимодействие лекарственных средств между NuAB1 и ниволумабом будут оценивать при необходимости.

Площадь под кривой концентрации в сыворотке-время (AUC).

Максимальная концентрация в сыворотке (C_{max}).

Минимальная концентрация в сыворотке (C_{min}).

Объем распределения в равновесном состоянии (V_{ss}).

PK профиль пиковой и остаточной концентрации будут получать из данных о концентрации ниволумаба в сыворотке по возможности и при необходимости.

Иммуногенность.

Иммуногенность, определенную как иммунный ответ на NuAB1 или ниволумаб, будут оценивать посредством измерения общих антител против NuAB1 и общих антител против ниволумаба у всех пациентов. Тестирование иммуногенности будет состоять из скрининга, подтверждения и титрования в случае NuAB1 и ниволумаба.

Фармакодинамические биомаркеры.

Изменения субпопуляций моноцитов в цельной крови при проточной цитометрии.

Изменения уровней цитокинов при мультиплексном анализе.

Уровни экспрессии биомаркеров в биоптатах опухоли, измеряемые посредством ИНС.

5.3.1.3. Исследовательские.

Эффективность.

Общую выживаемость (OS) будут определять как время между введением первой дозы исследуемого лекарственного средства и смертью.

Одногодичная OS.

Медианная OS.

Длительность ответа (DOR) будут определять как время с момента ответа (CR или PR) до начала PD, подтверждаемого впоследствии.

Выживаемость без прогрессирования (PFS) будут определять для каждого пациента как время с момента введения первой дозы до первого наблюдения прогрессирования заболевания или смерти по любой причине.

5.3.2.3. Исследовательские.

Фармакодинамические биомаркеры.

Изменения уровней выбранных маркеров в сыворотке.

Изменения фенотипов периферических Т-клеток и других лейкоцитов при проточной цитометрии.

Уровни периферических MDSC при проточной цитометрии.

Изменения экспрессии генов в цельной крови или РВМСю

5.4. Анализы.

5.4.1. Демографические и исходные характеристики.

Демографические данные, анамнез, другие исходные характеристики, сопутствующее заболевание и сопутствующие лекарственные средства будут суммировать по когорте и в целом. Для определения того, соблюдены ли критерии проведения исследования, будут представлены соответствующие таблицы и списки. Они будут включать оценку отклонений от протокола, учет исследуемого лекарственного средства и другие данные, которые могут влиять на проведение исследования.

5.4.2. Анализы эффективности.

Для каждого типа заболевания ответ на лечение будут суммировать по ORR, определенному как соотношение количества пациентов, достигших объективного ответа, и количества включенных в исследование пациентов. Точный доверительный интервал будут получать для доли ответивших. Общую выживаемость, одногодичную выживаемость и медианную выживаемость будут оценивать способом Каплана-Майера. Также будут представлять соответствующий доверительный интервал.

5.4.3. Анализы безопасности.

Анализы безопасности будут осуществлять для пациентов, включенных в выборку для оценки безопасности. АЕ, информацию о клинических лабораторных показателях, основные показатели жизнедеятельности, функциональный статус по ECOG, массу тела и данные ЭКГ будут заносить в таблицы и суммировать.

АЕ будут суммировать в целом и отдельно по SAE, АЕ, приведшим к прекращению участия в исследовании, АЕ, приведшим к смерти, и АЕ степени 3 или выше по NCI-CTCAE версии 4.03.

Массу тела и основные показатели жизнедеятельности будут суммировать описательно (n, среднее, стандартное отклонение, медиана, минимум и максимум). Функциональный статус по ECOG будут суммировать качественно и описательно.

Таблицы сдвигов, в которых отражены количества пациентов и процентные доли, классифицированные по исходной степени и максимальной степени во время лечения, будут представлены для лабораторных данных по когортам и в целом. Выраженное изменение лабораторных показателей определяют сдвиг с исходной степени 0 до степени 3 (негематологические) или степени 4 (гематологические) во время лечения или сдвиг с исходной степени 1 до степени 4 во время лечения. Количество и процентную долю пациентов с выраженными изменениями лабораторных показателей будут заносить в таблицу по когортам и в целом.

5.4.4. Фармакокинетические анализы.

График данных об индивидуальных и средних концентрациях NuAB1 и ниволумаба в сыворотке относительно времени будут строить относительно уровня дозы. Сводную статистику будут заносить в таблицу для данных о концентрации в сыворотке относительно времени и оцениваемых параметрах РК NuAB1, при необходимости. Будут оценивать потенциальное РК взаимодействие лекарственных средств между NuAB1 и ниволумабом.

В случае NuAB1 будут оценивать параметры РК, включая C_{max} , AUC, C_{trough} , CL и V_{ss} . Будут оценивать другие параметры РК, а также межиндивидуальную вариабельность, накопление NuAB1 и пропорциональность дозы, если данные доступны. Данные о РК (NuAB1 и/или ниволумаб), собранные в этом исследовании, можно использовать в комбинации с другими исследованиями для моделирования воздействие-ответ или моделирования выборки для анализа РК, которые будут частью отдельного доклада.

5.4.5. Иммуногенность.

Будет представлен список всех доступных данных об иммуногенности NuAB1 и ниволумаба. Кроме того, будет представлен список данных об иммуногенности у пациентов по меньшей мере с одним положительным ADA в любую временную точку по уровню дозы. Будет представлено количество пациентов по меньшей мере с одной положительной оценкой ADA и количество пациентов, у которых развивалось ADA после отрицательной исходной оценки, на дозу. Для исследования потенциальной взаимосвязи между иммуногенностью и безопасностью можно исследовать частоту и тип особенно интересующих АЕ по общему статусу иммуногенности. Можно исследовать ассоциации между концентрациями NuAB1 или ниволумаба перед введением дозы и соответствующими оценками ADA.

5.4.5. Анализы биомаркеров.

Для оценки PD эффектов NuAB1 и ниволумаба в отношении различных исследовательских биомаркеров (таких как растворимые факторы, субпопуляции иммунных клеток в периферической крови и других маркеров, оцениваемых посредством ИНС) сводную статистику для этих маркеров и их изменения (или изменения процентов) относительно исходного уровня будут заносить в таблицу по посещению и дозе. Кроме того, зависимость от времени результатов по исследовательским биомаркерам будут исследовать графически с помощью сводных графиков или графиков для отдельных пациентов с течением

времени. Характер изменений значений этих биомаркеров с течением времени и то, как профили отличаются в зависимости от уровней доз, можно исследовать дополнительно посредством подходящего моделирования, например с помощью линейных моделей со смешанными эффектами.

Возможные ассоциации показателей биомаркеров с показателями клинической эффективности, включая OS, будут исследовать с учетом доступности данных. Для дальнейшего исследования таких ассоциаций можно использовать способы в качестве неограничивающих примеров, такие как логистическая регрессия.

Если на момент закрытия базы данных для первичных и вторичных конечных точек данные о биомаркерах, относящиеся к исследовательским целям, недоступны, результаты этих анализов биомаркеров можно не включать в CSR, но сообщать о них отдельно.

Экспрессия выбранных маркеров в сыворотке.

Анализ экспрессии является описательными по своей природе и предназначены для исследования распределения экспрессии и оценки потенциальных ассоциаций между экспрессией и показателями эффективности. Если есть указание на значимую ассоциацию, в дальнейшей работе будут оценивать экспрессию в качестве прогностического биомаркера, включая выбор оптимального порогового значения экспрессии для классификации пациентов как положительных или отрицательных. Выбор порогового значения и валидацию будут осуществлять во всех исследованиях и регистрировать их вне индивидуальных CSR. Кроме того, анализы, подробно описанные ниже, можно регистрировать вне CSR для обеспечения целостности любых потенциальных анализов для валидации с использованием данных этого исследования.

Будут осуществлять следующие анализы:

Ведение списка данных о выбранных биомаркерах.

Суммирование получения и характеристик образцов опухолей.

Сводную статистику экспрессии по выбранным подгруппам и в целом.

Построение коробчатой диаграммы экспрессии по исследуемой группе и в целом.

Кривые OS для каждой исследуемой группы будут оценивать с использованием множительного способа Каплана-Майер (KM) для каждой подгруппы квартили экспрессии и для подгруппы пациентов с неизвестным или неопределенным результатом ИНС. Квартили экспрессии будут определять с учетом общей выборки. Двухсторонние 95% доверительные интервалы для медианной OS будут вычислять способом Брукмейера и Кроули.

Определяемые исследователем кривые PFS для каждой исследуемой группы будут оценивать множительным способом KM для каждой подгруппы квартили экспрессии и для подгруппы пациентов с неизвестным или неопределенным результатом ИНС. Квартили экспрессии будут определять с учетом общей выборки. Двухсторонние 95% доверительные интервалы для медианной PFS будут вычислять способом Брукмейера и Кроули.

Определяемые исследователем ORR будут вычислять для исследуемой группы вместе с точными 95% CI способом Клоппера-Пирсона для каждой подгруппы квартили экспрессии и для подгруппы пациентов с неизвестным или неопределенным результатом. Квартили экспрессии будут определять с учетом общей выборки. Будут вычислять ассоциированные отношения шансов и 95% CI.

Коробчатые диаграммы экспрессии относительно статуса ответа по исследуемой группе.

Кумулятивная кривая распределения экспрессии относительно процентиля выборки по исследуемой группе и в целом.

Каскадные диаграммы индивидуальной экспрессии по исследуемой группе.

Лесовидный график отношения рисков OS и PFS с 95% CI для каждой подгруппы квартили экспрессии и для подгруппы пациентов с неизвестным или неопределенным результатом ИНС. Квартили экспрессии будут определять с учетом общей выборки.

5.5. Промежуточный анализ.

Не запланирован формальный промежуточный анализ.

Спонсор (и/или уполномоченное лицо) и исследователи будут рассматривать данные о безопасности когорты каждой дозы перед повышением или уменьшением дозы. Кроме того, можно осуществлять промежуточное суммирование данных несколько раз до завершения исследования для облегчения принятия решений по программе и для поддержки презентаций или публикаций.

Список сокращений

Термин	Определение
АКТГ	Адренокортикотропный гормон
АДА	Антитело против лекарственного средства
АЕ	Побочный эффект
АЛТ	Аланинаминотрансфераза
АНА	Антиядерное антитело
АNC	Абсолютное число нейтрофилов
АСТ	Аспаратаминотрансфераза
АТ	Аминотрансферазы
AUC	Площадь под кривой концентрация-время
AUC (INF)	Площадь под кривой концентрация-время с нулевого момента, экстраполированная до бесконечности
β -HCG	Бета-хорионический гонадотропин человека
BID	Дважды в сутки
BMI	Индекс массы тела
BMS	Bristol-Myers Squibb
BP	Артериальное давление
BTLA	B- и T-лимфоцитарный аттенуатор
BUN	Азот мочевины крови
°C	Градусы Цельсия
CBC	Клинический анализ крови
CD	Кластер дифференцировки
CFR	Свод федеральных постановлений США
CHO	Яичник китайского хомяка
CI	Доверительный интервал
СК	креатинкиназа
CL	Выведение
C_{max} , CMAX	Максимальная наблюдаемая концентрация
C_{min} , CMIN	Остаточная наблюдаемая концентрация
CMV	Цитомегаловирус
CNS	Центральная нервная система
CR	Полный ответ
CRC	Колоректальный рак
CRF	Индивидуальная регистрационная карта в бумажном или электронном виде
CRO	Контрактная исследовательская организация
CRP	C-реактивный белок
CSF1	Колонистимулирующий фактор 1
CSF1R	Рецептор колониестимулирующего фактора 1
CSR	Отчет о клиническом исследовании
КТ	Компьютерная томография
СТА	Согласие на клинические испытания
CTCAE версии 4.03	Критериев оценки степени тяжести наиболее частых нежелательных явлений версии 4.03
CTLA-4	Антиген 4 цитотоксических Т-лимфоцитов
C_{trough}	Остаточная наблюдаемая концентрация в плазме
CTX	C-концевые перекрестношитые пептиды коллагена
CV	Коэффициент вариации

DC	Дендритная клетка
DEHP	Ди- (2-этилгексил) фталат
DILI	Индукцируемое лекарственным средством повреждение печени
dL	Децилитр
DLT	Дозолимитирующая токсичность
DMARD	Модифицирующие заболевание средства против ревматоидного артрита
дНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
DOR	Длительность ответа
EC ₅₀	Полумаксимальная эффективная концентрация
ЭКГ	Электрокардиограмма
ECLA	Электрохемилюминесцентный анализ
ECM	Внеклеточный матрикс
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
eCRF	Электронная индивидуальная регистрационная карта
EDC	Электронная система регистрации данных исследования
например	например
ELISA	Твердофазный иммуноферментный анализ
ePND	Усиленное пре- и постнатальное развитие
ESR	Скорость оседания эритроцитов
°F	Градусы Фаренгейта
FACS	Активируемая флуоресценцией сортировка клеток
Fc	Кристаллизующийся фрагмент иммуноглобулина
FDA	Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов
FFPE	Фиксированные формалином, погруженные в парафин
FISH	Флуоресцентная гибридизация <i>in situ</i>
FivePrime	Five Prime Therapeutics, Inc.
FSH	Фолликулостимулирующий гормон
г	Грамм
GBM	Мультиформная глиобластома
GCP	Надлежащая клиническая практика
GI	Желудочно-кишечный
ч.	Час
HBsAg	Коровый антиген гепатита В
HBsAg	Поверхностный антиген гепатита В
HBV	Вирус гепатита В
HCV	вирус гепатита С
ВИЧ	Вирус иммунодефицита человека
HR	Частота сердечных сокращений
HRP	Пероксидаза хрена
HRT	Гормонозаместительная терапия
IB	Брошюра исследователя
IC ₅₀	Полумаксимальная ингибиторная концентрация
ICD	Импантируемый кардиовертер-дефибриллятор
ICF	форма информированного согласия
ICH	Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных средств для человека
ICOS	Индукцибельный коstimулятор
ID	Инфекционное заболевание
т.е.	то есть
IEC	Независимый этический комитет
IFN	Интерферон
IgG	Иммуноглобулин G
IHC	Иммуногистохимия
IL	Интерлейкин
IM	Внутримышечный
IMP	Исследовательский медицинский продукт
IND	Новое исследовательское лекарственное средство
INR	Международное нормализованное отношение
I-O	Иммуноонкология
irAE	Связанный с иммунитетом побочный эффект
IRB	Экспертный совет организации
ITIM	иммунорецепторный тирозиновый ингибирующий мотив
ITSM	иммунорецепторный тирозиновый мотив-переключатель

IU	Международная единица
IV	Внутривенный
IXRS	Интерактивная система, позволяющая доступ путем телефонного звонка и через Интернет
кг	Килограмм
KM	Способ Каплана-Майер
LAG-3	Лимфоцит-активирующий ген 3
LDH	Лактатдегидрогеназа
LFT	Функциональное тестирование печени
LLOQ	Нижний предел количественного анализа
MABEL	Минимальный уровень ожидаемого биологического эффекта
mCRPC	Метастазирующий кастрационно-резистентный рак предстательной железы
MDSC	Миелоидная супрессорная клетка
мг	Миллиграмм
мин	Минута
мкл	Микролитр
мл	Миллилитр
MLR	Реакция смешанной культуры лимфоцитов
μм	Микрометр
мМ	Миллимолярный
мм ³	Кубический миллиметр
мм рт. ст.	Миллиметры ртутного столба
MPT	Магнитно-резонансная томография
MSD	Meso Scale Discovery
MTD	Максимальная переносимая доза
N	Количество пациентов или наблюдений
NCA	Анализ без учета компартментов
NCI	National Cancer Institute
нг	Нанограмм
NOAEL	Уровень отсутствия наблюдаемых побочных эффектов
NSCLC	Немелкоклеточный рак легких
NYHA	New York Heart Association
NSAID	Нестероидное противовоспалительное лекарственное средство
ORR	Частота объективных ответов
OS	Общая выживаемость
PBMC	Мононуклеарные клетки периферической крови
PD	Фармакодинамика
PD-1	Белок программируемой гибели 1
PDAC	Протоковая аденокарцинома поджелудочной железы
PD-L1	Лиганд программируемой гибели 1
PD-L2	Лиганд программируемой гибели 2
FFS	Выживаемость без прогрессирования
PK	Фармакокинетика
PO	Перорально
PPK	Популяционная фармакокинетика
PR	Частичный ответ
PT	Протромбиновое время
PTT (aPTT)	Частичное тромбопластиновое время
PVC	Поливинилхлорид
q2w	Каждые две недели
qPCR	Количественная полимеразная цепная реакция в реальном времени
qRT-ПЦР	Количественная полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
QTcF	Коррекция по формуле Фридерича для интервала QT
RBC	Эритроцит
RCC	Почечноклеточная карцинома
RD	Рекомендуемая доза
RECIST	Критерии оценки ответа солидных опухолей на терапии версии 1.1
РНК	Рибонуклеиновая кислота
SAE	Серьезный побочный эффект
SAP	План статистического анализа
SCCHN	Плоскоклеточная карцинома головы и шеи
SD	Стабильное заболевание

SKTnI	Тропонин скелетных мышц
SOP	Типовая инструкция
T ₃	Трийодтиронин
T ₄	Тироксин
TAM	Опухоль-ассоциированный макрофаг
TB	Туберкулез
TCR	T-клеточный рецептор
TIL	Инфильтрирующий опухоль лимфоцит
T _{max} , T _{MAX}	Время максимальной наблюдаемой концентрации
TNF	Фактор некроза опухоли
Trap5b	Устойчивые к тартрату кислые фосфатазы 5b
ULN	Верхняя граница нормы
USP	Фармакопея США
Vss	Объем распределения в равновесном состоянии
Vz	Объем распределения терминальной фазы (в случае IV и в случае мультиэкспоненциального снижения)
WBC	Лейкоцит
WHO	Всемирная организация здравоохранения
WOCBP	Женщины репродуктивного возраста

6. Ссылки.

Ansari MJ, Salama AD, Chitnis T, Smith RN, Yagita H, Akiba H, et al. The programmed death-1 (PD-1) pathway regulates autoimmune diabetes in nonobese diabetic (NOD) mice. *J Exp Med.* 2003;198(1):63-9.

Blazar BR, Carreno BM, Panoskaltsis-Mortari A, Carter L, Iwai Y, Yagita H, et al. Blockade of programmed death-1 engagement accelerates graft-versus-host disease lethality by an IFN- α -dependent mechanism. *J Immunol.* 2003;171:1272-7.

Carter LL, Fouser LA, Jussif J, Fitz L, Deng B, Wood CR, et al. PD-1:PD-L inhibitory pathway affects both CD4⁺ and CD8⁺ T cells and is overcome by IL-2. *Eur J Immunol.* 2002;32(3):634-43.

Cassier P, Gomez-Roca C, Italiano A, Cannarile M, Ries C, Brillouet A, et al. Phase 1 study of RG7155, a novel anti-CSF1R antibody, in patients with locally advanced pigmented

villonodular synovitis (PVNS). *J Clin Oncol suppl.* 2014;32:5 abstract 10504.

Chemnitz JM, Parry RV, Nichols KE, June CH, Riley JL. SHP-1 and SHP-2 associate with immunoreceptor tyrosine-based switch motif of programmed death 1 upon primary human T cell stimulation, but only receptor ligation prevents T cell activation. *J Immunol.* 2004;173:945-54.

Dai X, Ryan G, Hapel A, Dominguez M, Russell R, Kapp S, et al. Targeted disruption of the mouse colony-stimulating factor 1 receptor gene results in osteopetrosis, mononuclear phagocyte deficiency, increased primitive progenitor cell frequencies, and reproductive defects. *Blood.* 2002;99:111-20.

Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol.* 2002;3:991-8.

Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H, et al. Engagement of the PD 1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med.* 2000;192(7):1027-34.

Gabbay MB, Thomas J, Gibbs A, Hold P. A randomized crossover trial of the impact of additional spermicide on condom failure rates. *Sex Transm Dis.* 2008;35:862-8.

Greenwald RJ, Freeman GH, Sharpe AH. The B7 family revisited. *Annu Rev Immunol.* 2004;23:515-48.

Habicht A, Dada S, Jurewicz M, Fife BT, Yagita H, Azuma M, et al. A link between PDL1 and T regulatory cells in fetomaternal tolerance. *J Immunol.* 2007;179:5211-9.

Hamilton J, Achuthan A. Colony stimulating factors and myeloid cell biology in health and disease. *Trends in Immunology,* 2013;34:81-89.

Kaufmann DE, Walker BD. Programmed death-1 as a factor in immune exhaustion and activation in HIV infection. *Curr Opin HIV Aids.* 2008;3(3):362-7.

Kestelman P, Trussel, J. Efficacy of the simultaneous use of condoms and spermicides. *Family Planning Perspectives*. 1991;23(5):226-7.

Komohara Y, Jinushi M, Takeya M. Clinical significance of macrophage heterogeneity in human malignant tumors. *Cancer Sci*. 2014;105:1-8.

Kuang DM, Zhao Q, Peng C, Xu J, Zhang JP, Wu C, et al. Activated monocytes in peritumoral stroma of hepatocellular carcinoma foster immune privilege and disease progression through PD-L1. *J Exp Med*. 2009;206(6):1327-37.

Latchman Y, Wood CR, Chernova T, Chaudhary D, Borde M, Chernova I, et al., PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol*. 2001;2(3):261-268.

Lavin Y, Merad M. Macrophages: gatekeepers of tissue integrity. *Cancer Immunol Res*. 2013;1(4):201-9.

Lavin Y, Winter D, Blecher-Gonen R, David E, Keren-Shaul H, Merad M, et al. Tissue-dependent macrophage enhancer landscapes are shaped by the local microenvironment. *Cell*. 2014;159:1312-26.

Llosa NJ, Cruise M, Tam A, Wicks EC, Hechenbleikner EM, Taube JM, et al. The vigorous immune microenvironment of microsatellite instable colon cancer is balanced by multiple counter-inhibitory checkpoints. *Cancer Discov*. 2015;5(1):43-51.

Masteller E, Wong, B. Targeting IL-34 in chronic inflammation. *Drug Discov Today*, 2014;19:1212-16.

Nishimura H, Nose M, Hiai H, Minato N, Honjo T. Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity*. 1999;11:141-51.

Nishimura H, Honjo T. PD-1: an inhibitory immunoreceptor involved in peripheral tolerance. *Trends Immunol*. 2001a; 22: 265-8.

Nishimura H, Okazaki T, Tanaka Y, Nakatani K, Hara M, Matsumori A, et al. Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor-deficient mice. *Science*. 2001b;291:319-22.

Nivolumab Investigator's Brochure. Version 13. Bristol-Myers Squibb. 21July2014

Noy R, Pollard J. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy. *Immunity*. 2014;41:49-61.

Okazaki T, Tanaka Y, Nishio R, Mitsuiye T, Mizoguchi A, Wang J, et al. Autoantibodies against cardiac troponin I are responsible for dilated cardiomyopathy in PD-1-deficient mice. *Nat Med*. 2003;9:1477-83.

Opdivo [вкладыш в упаковку]. Princeton, NJ: Bristol-Myers Squibb Company; March, 2015.

Pardoll D. Does the immune system see tumors as foreign or self? *Annu Rev Immunol*. 2003;21:807-39.

Pyontek S, Akkari L, Schuhmacher A, Bowman R, Sevenich L, Quail D, et al. CSF-1R inhibition alters macrophage polarization and blocks glioma progression. *Nat Med*. 2013;19:1264-72.

Radi Z, Guzman R, Bell R. Increased connective tissue extracellular matrix in the op/op model of osteopetrosis. *Pathobiology*. 2009;76:199-203

Radi Z, Koza-Taylor P, Bell R, Obert L, Runnels H, Beebe J, et al. Increased serum enzyme levels associated with Kupffer cell reduction with no signs of hepatic or skeletal muscle injury. *Am J Pathol*. 2011;179: 240-247.

Ries C, Cannarile M, Hoves S, Benz J, Wartha K, Runza V, et al. Targeting tumor-associated macrophages with anti-CSF-1R antibody reveals a strategy for cancer therapy. *Cancer Cell*. 2014;25:846-59.

Rizvi NA, Mazières J, Planchard D, Stinchcombe TE, Dy GK, Antonia SJ, et al. Activity and safety of nivolumab, an anti-PD-1 immune checkpoint inhibitor, for patients with advanced, refractory squamous non-small-cell lung cancer (CheckMate 063): a phase 2, single-arm trial. *Lancet Oncol*. 2015;16(3):257-65.

Ruffell B, Coussens LM. Macrophages and therapeutic resistance in cancer. *Cancer Cell*. 2015;27:462-72.

Rutebemberwa A, Ray SC, Astemborski JL, Levine J, Liu L, Dowd KA, et al. High-programmed death-1 levels on hepatitis C

virus-specific T cells during acute infection are associated with viral persistence and require preservation of cognate antigen during chronic infection. *J Immunol.* 2008;181:8215-25.

Sadis S, Mukherjee A, Olson S, Dokmanovich M, Maher R, Cai C, et al. Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of PD-0360324, a human monoclonal antibody to monocyte/macrophage colony stimulating factor, in healthy volunteers. ACR/ARHP Scientific Meeting 2009, Oct 17-21, Philadelphia, PA, Poster 408.

Salama AD, Chitnis T, Imitola J, Ansari MJ, Akiba H, Tushima F, et al. Critical role of the programmed death-1 (PD-1) pathway in regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med.* 2003;198:71-8.

Sharpe AH, Wherry EJ, Ahmed R, Freeman GJ. The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection. *Nature Immunol.* 2007;8:239-45.

Sheppard KA, Fitz LJ, Lee JM, Benander C, George JA, Wooters J, et al. PD-1 inhibits T-cell receptor induced phosphorylation of the ZAP70/CD3zeta signalosome and downstream signaling to PKC-theta. *FEBS Letters.* 2004;574:37-41.

Tumeh PC, Harview CL, Yearley JH, Shintaku IP, Taylor EJM, Robert L, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature.* 2014;515:568-71.

Velu V, Titanji K, Zhu B, Husain S, Pladevega A, Lai L, et al. Enhancing SIV-specific immunity in vivo by PD-1 blockade. *Nature.* 2009;458:206-10.

Wang C, Thudium KB, Han M, Wang XT, Huang H, Feingersh D, et al. In vitro characterization of the anti-PD-1 antibody nivolumab, BMS-936558, and in vivo toxicology in non-human primates. *Cancer Immunol Res.* 2014;2:846-56.

Weber JS, D'Angelo SP, Minor D, Hodi FS, Gutzmer R, Neyns B, et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2015;16(4):375-84.

Wolchok JD, Hoos A, O'Day S, Weber JS, Hamid O, Lebbe C. Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria. *Clin Cancer Res.* 2009;15:7412-20.

Zitvogel L, Tesniere A, Kroemer G. Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion. *Nat Rev Immunol.* 2006;6:715-27.

Zhu Y, Knolhoff B, Meyer M, Nywening T, West B, Luo J, et al. CSF1/CSF1R blockade reprograms tumor-infiltrating macrophages and improves response to T-cell checkpoint immunotherapy in pancreatic cancer models. *Cancer Res.* 2014;74:5057-69.

Приложение А - Схема оценок
 Монотерапия NuAB1 и комбинация в фазе 1а - Схема оценок пациентов

Процедура ^{a, b}	Скрининг	Цикл 1				Цикл 2	Цикл x ^c	Посещение для завершения/раннего прекращения лечения
	Со дня -28 до дня 0	День 1	День 2	День 4	День 8	День 1	День 1	
	Неделя 0	Неделя 1			Неделя 2	Неделя 3	Неделя ≥5	
Информированное согласие	x							
Рассмотрение/подтверждение критериев пригодности	x	x						
Анамнез/демографические данные	x	x						
Физикальный осмотр ^c	x	x			x	x	x	x
Определение роста и массы тела ^d	x	x				x	x	x
Основные показатели жизнедеятельности ^e	x	x			x	x	x	x
Функциональный статус по ECOG ^f	x	x				x	x	x
Лабораторный скрининг ^g	x							
Лабораторные признаки клинической безопасности ^h	x	x			x	x	x	x
ЭКГ в 12 отведениях ⁱ	x							x
Оценка опухоли посредством КТ/МРТ ^{j, k}	x						x	x
Сывороточный тест на беременность ^l	x	x						x
Биопсия ^m	x						x	x
Выборка для анализа РК ^{n, o}		x	x	x	x	x	x	x
Выборка для анализа PD ^p		x	x	x	x	x	x	x
Выборка для анализа ADA ^p		x				x	x	x
Выборка для анализа ANA ^p		x				x	x	x
Исследуемые лекарственные средства ^q								
Побочные эффекты	x-----							x
Предшествующие/сопутствующие лекарственные средства	x-----							x

Примечания к схеме оценок фазы 1а.

a) Если не указано, процедуру необходимо завершать в течение ± 72 ч от запланированной временной точки и синхронизировать с днем проведения инфузии NuAB1.

b) Любую клиническую оценку, лабораторное исследование или дополнительные неуказанные тесты можно осуществлять в любое время, если клинически показано.

c) Стандартный физикальный осмотр будут осуществлять, как определено исследователем, в частности, наблюдая физические показатели до разрешения. Целевые физикальные осмотры необходимо осуществлять в любое время для последующего обследования в сообщениях о АЕ.

d) Рост необходимо регистрировать только при скрининге (для вычисления ВМІ). Массу тела необходимо регистрировать в день 1 каждого цикла. Дозу будут корректировать, только если изменение массы тела составляет $>10\%$ по сравнению со временем введения первой дозы в день 1 цикла 1.

e) Основные показатели жизнедеятельности включают пульс, частоту дыхания, артериальное давление и температуру в положении лежа. Их измеряют перед введением дозы и после завершения каждой IV инфузии в следующие временные точки: через 5 мин, 15 мин, 30 мин и 1 ч после введения дозы (через 30 мин и 1 ч после введения только NuAB1). Пульсоксиметрию осуществляют в покое и после нагрузки только перед введением дозы.

f) Оценки статуса пациента по ECOG следует осуществлять в течение 72 ч перед введением дозы (день 1 каждого цикла).

g) Лабораторный скрининг включает серологический анализ на гепатит В (HBsAg и HBcAb), гепатит С (антитела против HCV), антитела против ВИЧ и квантифероновый тест (на латентный TB).

h) Лабораторные признаки клинической безопасности:

гематологический анализ, включая общий анализ крови с подсчетом лейкоцитарной формулы, тромбоцитов, гемоглобина, гематокрита, эритроцитов и эритроцитарных индексов,

биохимический анализ включает анализ на СК (креатинкиназу), АСТ (аспартаттрансаминазу), АЛТ (аланинтрансаминазу), бикарбонат, билирубин (прямой и непрямой), BUN (азот мочевины крови), кальций, хлор, креатинин, глюкозу, LDH (лактатдегидрогеназу), фосфор, калий, натрий и, при необходимости, сывороточный анализ на беременность. Если СК повышен в любое время, осуществляют анализ на тропонины (сердечные и скелетных мышц), изоферменты СК, альдолазу и ЭКГ; повторяют анализ на СК

и эти дополнительные тесты ежедневно или с другим интервалом по клиническим показаниям, до разрешения или стабилизации. Если АСТ или АЛТ повышена, осуществляют анализ на общий билирубин сыворотки, щелочную фосфатазу; повторяют анализ ежедневно или с другим интервалом, по клиническим показаниям, до разрешения или стабилизации. Дополнительные тесты можно осуществлять в любое время, если клинически показано.

Анализ мочи будут осуществлять исключительно при скрининге и по клиническим показаниям.

i) Получают записи ЭКГ при скрининге и посещении для завершения/раннего прекращения лечения (после забора крови для анализа РК, регистрируют точное время). Дополнительные ЭКГ необходимо осуществлять в любое время, если повышен СК сыворотки или сердечный тропонин; при наличии отклонений (исключая синусовую тахикардию) необходимо осуществлять ЭКГ (если клинически показано) до разрешения отклонения или клинической стабилизации. Дополнительные ЭКГ можно осуществлять в любое время, если клинически показано. ЭКГ для каждого пациента необходимо осуществлять с помощью одного и того же устройства, если это возможно. Для минимизации вариабельности важно, чтобы пациенты находились в состоянии покоя по меньшей мере за 5 мин до каждой ЭКГ. Положение тела необходимо поддерживать постоянным для каждой ЭКГ для предотвращения изменений частоты сердечных сокращений. Необходимо избегать внешних раздражителей (например, телевидения, радио, беседы) в течение периода покоя перед проведением ЭКГ и при регистрации ЭКГ.

j) КТ/МРТ очагов опухоли, измеряемых по критериям оценки ответа солидных опухолей на терапию (RECIST) версии 1.1. Если пациент прекращает участие перед запланированными сканированиями КТ/МРТ, индивидуума необходимо подвергать сканированию при посещении для завершения/раннего прекращения лечения. Тот же способ измерения необходимо использовать на месте для поддержания единообразия между различными временными точками.

к) КТ/МРТ осуществляют каждые 8 недель в течение первых 12 месяцев для пациентов, лечение которых продолжают (и каждые 12 недели впоследствии), и 28 дней (± 7 дней) после введения последней дозы исследуемого лекарственного средства. Сканирования КТ/МРТ можно не повторять, если его осуществляли в течение 8 недель перед посещением для завершения/раннего прекращения лечения или ранее определяли прогрессирование опухоли.

l) Всех женщин репродуктивного возраста (включая подвергнутых перевязке маточных труб) будут подвергать сывороточному тесту на беременность при скрининге, в день 1 цикла 1, при посещении для завершения/раннего прекращения лечения и по клиническим показаниям.

m) Биопсию первичного очага опухоли или метастазирующей опухоли будут осуществлять при скрининге и перед введением дозы в день 1 цикла 3. Пациентам, имеющим задокументированное прогрессирование, рекомендуют проводить еще одну биопсию в конце лечения. Биоптаты будут оценивать на опухолеассоциированные лейкоциты, пролиферацию опухолевых клеток и маркеры гибели клеток.

n) Образцы будут собирать для анализов РК, PD и ADA. Не во все посещения будет необходимо собирать все три (см. схему сбора образцов в приложении С).

o) Кровь будут собирать для оценки C_{max} и C_{min} в день 1 исследования лекарственных средств в циклы 1, 2, 3, 5, 8, 9, 13, 21 и в конце лечения.

p) Тестирование на антинуклеарные антитела (ANA) с помощью непрямого флуоресцентного анти-тела (IFA). Если титр является положительным, для подтверждения результата проверяют скорость оседания эритроцитов (ESR) и С-реактивный белок (CRP). Будут проверять перед введением доз в циклы 1, 2, 3, 5, 9, 13, 21, затем каждые 6 циклов во время лечения и при посещении для завершения/раннего прекращения лечения.

q) Исследуемое лекарственное средство НиАВ1 ± ниволумаб будут вводить каждые 2 недели в 14-дневных циклах в течение 4 недель. Введение доз можно продолжать до достижения PD или неприемлемой токсичности.

r) Эти оценки следует осуществлять перед введением каждой последующей дозы (за исключением указанного в приложении В) пациентам, продолжающим лечение без признаков прогрессирования заболевания или токсичности.

Приложение В - Схема оценок
 НиАВ1+ниволумаб фазы 1b - Схема оценок пациентов

Процедура ^{a, b}	Скрининг	Цикл 1				Цикл 2	Цикл	Посещение для завершения/раннего прекращения лечения	
	Со дня -28 до дня 0	День 1	День 2	День 4	День 8	День 1	День 1		
	Неделя 0	Неделя 1		Неделя 2	Неделя 3	Неделя ≥ 5			
Информированное согласие	x								
Рассмотрение/подтверждение критериев	x	x							
Анамнез/демографические данные	x	x							
Физикальный осмотр ^c	x	x			x	x	x	x	
Определение роста и массы тела ^d	x	x				x	x	x	
Основные показатели жизнедеятельности ^e	x	x			x	x	x	x	
Функциональный статус по ECOG ^f	x	x				x	x	x	
Лабораторный скрининг ^g	x								
Лабораторные признаки клинической ЭКГ в 12 отведениях ^h	x	x			x	x	x	x	
Оценка опухоли посредством КТ/МРТ ^{1, k}	x						x	x	
Сывороточный тест на беременность ^l	x	x						x	
Биопсия ^m	x						x	x	
Выборка для анализа РК ^{n, o}		x	x	x	x	x	x	x	
Выборка для анализа PD ^p		x	x	x	x	x	x	x	
Выборка для анализа ADA ^q		x				x	x	x	
Выборка для анализа ANA ^r		x				x	x	x	
Исследуемые лекарственные средства ^s		x				x	x		
Побочный эффекты	x	-----							x
Предшествующие/сопутствующие	x	-----							x

Примечания к схеме оценок фазы 1b.

a) Если не указано, процедуру необходимо завершать в течение ± 72 ч от запланированной временной точки и синхронизировать с днем проведения инфузии НиАВ1.

b) Любую клиническую оценку, лабораторное исследование или дополнительные неуказанные тесты можно осуществлять в любое время, если клинически показано.

c) Стандартный физикальный осмотр будут осуществлять, как определено исследователем, в частности, наблюдая физические показатели до разрешения. Целевые физикальные осмотры необходимо осуществлять в любое время для последующего обследования в сообщениях о АЕ. Фотографию глаз индивидуума будут делать на исходном уровне, а затем при посещениях для последующего обследования по клиническим показаниям.

d) Рост необходимо регистрировать только при скрининге (для вычисления ВМІ). Массу тела необходимо регистрировать в день 1 каждого цикла. Дозу будут корректировать, только если изменение массы тела составляет $>10\%$ по сравнению со временем введения первой дозы.

e) Основные показатели жизнедеятельности включают пульс, частоту дыхания, артериальное давление и температуру в положении лежа. Их измеряют перед введением дозы и после завершения каждой IV инфузии в следующие временные точки: через 5 мин, 15 мин, 30 мин и 1 ч после введения дозы (через 30 мин и 1 ч после введения только НиАВ1). Пульсоксиметрию осуществляют в покое и после нагрузки только перед введением дозы.

f) Оценки статуса пациента по ECOG следует осуществлять в течение 96 ч перед введением дозы (день 1 каждого цикла).

g) Лабораторный скрининг включают серологический анализ на гепатит В (HBsAg и HBcAb), гепатит С (антитела против HCV), антитела против ВИЧ и квантифероновый тест (на латентный TB).

h) Лабораторные признаки клинической безопасности:

Гематологический анализ, включая общий анализ крови с подсчетом лейкоцитарной формулы, тромбоцитов, гемоглобина, гематокрита, эритроцитов и эритроцитарных индексов.

Биохимический анализ включает анализ на СК (креатинкиназу), АСТ (аспартаттрансаминазу), АЛТ (аланинтрансаминазу), бикарбонат, билирубин (прямой и непрямой), BUN (азот мочевины крови), кальций, хлор, креатинин, глюкозу, LDH (лактатдегидрогеназу), фосфор, калий, натрий и, при необходимости, сывороточный анализ на беременность. Если СК повышен в любое время, осуществляют анализ на тропонина (сердечные и скелетных мышц), изоферменты СК, альдолазу и ЭКГ; повторяют анализ на СК, и эти дополнительные тесты ежедневно или с другим интервалом, по клиническим показаниям, до разрешения или стабилизации. Если АСТ или АЛТ повышена, осуществляют анализ на общий билирубин сыворотки, щелочную фосфатазу; повторяют анализ ежедневно или с другим интервалом, по клиническим показаниям, до разрешения или стабилизации. Дополнительные тесты можно осуществлять в любое время, если клинически показано.

Анализ мочи будут осуществлять исключительно при скрининге и по клиническим показаниям.

i) Получают записи ЭКГ при скрининге и посещении для завершения/раннего прекращения лечения (после забора крови для анализа РК, регистрируют точное время). Дополнительные ЭКГ необходимо

осуществлять в любое время, если повышен СК сыворотки или сердечный тропонин; при наличии отклонений (исключая синусовую тахикардию) необходимо осуществлять ЭКГ (если клинически показано), до разрешения отклонения или клинической стабилизации. Дополнительные ЭКГ можно осуществлять в любое время, если клинически показано. ЭКГ для каждого пациента необходимо осуществлять с помощью одного и того же устройства, если это возможно. Для минимизации вариабельности важно, чтобы пациенты находились в состоянии покоя по меньшей мере за 5 мин до каждой ЭКГ. Положение тела необходимо поддерживать постоянным для каждой ЭКГ для предотвращения изменений частоты сердечных сокращений. Необходимо избегать внешних раздражителей (например, телевидения, радио, беседы) в течение периода покоя перед проведением ЭКГ и при регистрации ЭКГ. Дополнительные тесты можно осуществлять в любое время, если клинически показано.

ж) КТ/МРТ очагов опухоли, измеряемых по критериям оценки ответа солидных опухолей на терапию (RECIST) версии 1.1. Если пациент прекращает участие перед запланированными сканированиями КТ/МРТ, индивидуума необходимо подвергать сканированию при посещении для завершения/раннего прекращения лечения. Ответ по КТ/МРТ будут оценивать с использованием RECIST версии 1.1. В случае PD-1-резистентной меланомы и плоскоклеточного рака легких сканирования КТ необходимо осуществлять в конце циклов 4 и 6. Тот же способ измерения необходимо использовать на месте для поддержания единообразия между различными временными точками. Оценки опухоли в случае всех других типов злокачественных новообразований будут осуществлять каждые 2 месяца (4 цикла), если не показано клинически.

к) КТ/МРТ осуществляют каждые 8 недель в течение первых 12 месяцев для пациентов, лечение которых продолжают (и каждые 12 недель впоследствии) и 28 дней (± 7 дней) после введения последней дозы исследуемого лекарственного средства. Сканирования КТ/МРТ можно не повторять, если его осуществляли в течение 8 недель перед посещением для завершения/раннего прекращения лечения или ранее определяли прогрессирование опухоли.

л) Всех женщин репродуктивного возраста (включая подвергнутых перевязке маточных труб) будут подвергать сывороточному тесту на беременность при скрининге, при посещении для завершения/раннего прекращения лечения и по клиническим показаниям.

м) Биопсию первичного очага опухоли или метастазирующей опухоли будут осуществлять при скрининге и перед введением дозы в день 1 цикла 3. Пациентам, имеющим задокументированное прогрессирование, рекомендуют проводить еще одну биопсию в конце лечения. Биоптаты будут оценивать на опухолеассоциированные лейкоциты, пролиферацию опухолевых клеток и маркеры гибели клеток.

н) Образцы будут собирать для анализов PK, PD и ADA. Не во все посещения будет необходимо собирать все три (см. схему сбора образцов в приложении С).

о) Кровь будут собирать для оценки C_{max} и C_{min} в день 1 исследования лекарственных средств в циклы 1, 2, 3, 5, 8, 9, 13, 21 и в конце лечения.

р) Тестирование на антинуклеарные антитела (ANA) с помощью непрямого флуоресцентного антитела (IFA). Если титр является положительным, для подтверждения результата проверяют скорость оседания эритроцитов (ESR) и С-реактивный белок (CRP). Будут проверять перед введением доз в циклы 1, 2, 3, 5, 9, 13, 21, затем каждые 6 циклов во время лечения и при посещении для завершения/раннего прекращения лечения.

с) NuAB1 и ниволумаб будут вводить посредством IV инфузии в течение 30 мин. Ниволумаб будут вводить первым с 30-минутным интервалом между 2 инфузиями с последующей 30-минутной инфузией NuAB1.

г) Исследуемое лекарственное средство NuAB1+ниволумаб будут вводить каждые 2 недели в 14-дневных циклах и будут продолжать до достижения PD или неприемлемой токсичности.

д) Эти оценки следует осуществлять перед введением каждой последующей дозы (за исключением указанного в приложении В) пациентам, продолжающим лечение без признаков прогрессирования заболевания или токсичности.

Приложение С - Схема сбора образцов
Фаза 1a/b. Принципиальная схема исследования для сбора образцов крови
для анализа фармакокинетики и фармакодинамики

Цикл исследования	День исследования	Временная точка	Тип образца	
Скрининг	Скрининг (день -28)	Скрининг	Биопсия ткани	
Цикл 1	День 1	Перед инфузией	PK HuAB1 и ниволумаба (сыворотка)	
			ADA HuAB1 и ниволумаба (сыворотка)	
			Выбранные маркеры в сыворотке (сыворотка)	
			ANA (сыворотка)	
			CD14 ⁺ /CD16 ⁺ моноциты, панель MDSC (цельная кровь)	
Цикл 1	День 1	Через 15 мин после инфузии	Анализ экспрессии генов посредством RNASeq (цельная кровь)	
			Фенотип Т-клеток (замороженные PBMC)	
			Мультиплексная цитокиновая панель (сыворотка)	
Цикл 1	День 1	Через 4 ч. после инфузии	PK HuAB1 (сыворотка)	
		Через 24 ч. после инфузии	PK HuAB1 (сыворотка)	
	День 4	инфузии	Анализ экспрессии генов посредством RNASeq (цельная кровь)	
			Мультиплексная цитокиновая панель (сыворотка)	
			Через 72 ч. после инфузии	PK HuAB1 (сыворотка)
			CD14 ⁺ /CD16 ⁺ моноциты (цельная кровь)	
			Анализ экспрессии генов посредством RNASeq (цельная кровь)	
	День 8	Через 168 ч. после инфузии	PK HuAB1 (сыворотка)	
			CD14 ⁺ /CD16 ⁺ , (цельная кровь)	
			Экспрессия генов (цельная кровь)	
			Фенотип Т-клеток (замороженные PBMC)	
			Мультиплексная цитокиновая панель (сыворотка)	
Циклы 2-3	День 1	Перед инфузией	Биопсия ткани (необходимо осуществлять перед введением дозы в день 1 цикла 3)	
			HuAB1 и ниволумаб PK(сыворотка)	
			HuAB1 и ниволумаб ADA (сыворотка)	
			Выбранные маркеры в сыворотке (сыворотка)	
			ANA (сыворотка)	
			CD14 ⁺ /CD16 ⁺ моноциты, (цельная кровь)	
			Анализ экспрессии генов посредством RNASeq (цельная кровь)	
			Панель MDSC (цельная кровь) (исключительно цикл 3)	
			Фенотип Т-клеток (замороженные PBMC) (исключительно перед циклом 3; должен соответствовать биопсии ткани)	
			Мультиплексная цитокиновая панель (сыворотка)	
Циклы 2-3	День 1	Через 15 мин после инфузии	PK HuAB1 (сыворотка) (исключительно цикл 2)	
		Через 15 мин после инфузии	PK HuAB1 и PK ниволумаба (сыворотка)	
Циклы 5, 9,	День 1	Перед инфузией	PK HuAB1 и ниволумаба (сыворотка)	

13, 21			Выбранные маркеры в сыворотке (сыворотка) (перед циклом 9)
			ANA (сыворотка) (и каждые 6 циклов, начиная с цикла 21)
			CD14 ⁺ /CD16 ⁺ моноциты (цельная кровь) (перед циклом 9)
			Анализ экспрессии генов посредством RNASeq (цельная кровь)
			HuAB1 и ниволумаб ADA (сыворотка) (перед введением дозы для циклов 5, 13, и 21)
			Мультиплексная цитокиновая панель (сыворотка) (перед введением дозы для циклов 9 и 21)
Завершение лечения/раннее прекращение	Прекращение участия в исследовании/PD	После лечения	Биопсия ткань для пациентов, имеющих задокументированное прогрессирование заболевания
			PK HuAB1 и ниволумаба (сыворотка)
			ADA HuAB1 и ниволумаба (сыворотка)
			Выбранные маркеры в сыворотке (сыворотка)
			ANA (сыворотка)
			CD14 ⁺ /CD16 ⁺ моноциты (цельная кровь)
			Мультиплексная цитокиновая панель (сыворотка)
			Анализ экспрессии генов посредством RNASeq (цельная кровь)
Через 100 дней после введения последней дозы			ADA HuAB1 и ниволумаба (сыворотка)
			PK HuAB1 (сыворотка)

Приложение D - Сбор образцов для анализов PD

Образцы крови.
 Анализы цельной крови.
 CD14⁺/CD16⁺ моноциты.
 Экспрессия генов.
 ДНК для анализа SNP.
 Анализы сыворотки.
 PK HuAB1.
 PK ниволумаба.
 ADA HuAB1.
 ADA ниволумаба.
 ANA (если результат является положительным, проверяют ESR и CRP для подтверждения).
 Мультиплексный анализ цитокинов в сыворотке.
 Выбранные маркеры в сыворотке.
 Анализ замороженных PBMC для характеристики T-клеток, моноцитов и миелоидных супрессорных клеток посредством проточной цитометрии.
 Биоптаты опухоли.
 Анализ ИHC выбранных биомаркеров.
 Анализ экспрессии генов.
 Клональность T-клеточного рецептора.
 Анализ на неоантиген.

Таблица последовательностей

В табл.10 представлены конкретные последовательности, представленные в настоящем описании. Все последовательности полипептидов и антител представлены без лидерных последовательностей, если не указано иначе.

Таблица 10

Последовательности и описания

SEQ ID NO	Описание	Последовательность
1	hCSF1R (полноразмерный, без лидерной последовательности)	IPVIEPSVPE LVVKPGATVT LRCVNGSVE WDGPPSPHWT LYS DGSSSIL STNNATFQNT GTYRCTEPGD PLGGSAAIHL YVKDPAREWN VLAQEVVVFE DQDALLPCLL TDPVLEAGVS LVRVGRPLM RHTNYSFSPW HGFTIHRAKF

		<p> IQSQDYQCSA LMGGRKVMSI SIRLKVQKVI PGPPALTLVP AELVRIRGEA AQIVCSASSV DVNFDVFLQH NNTKLAIPQQ SDFHNNRYQK VLTNLNDQVD FQHAGNYSCV ASNVQGHST SMFFRVVESA YLNLSEQNL IQEVTVGEGE NLKVMVEAYP GLQGFNWTYL GPFSDHQPEP KLANATTKDT YRHTFTLSLP RLKPFSEAGRY SFLARNPGGW RALTFELTLR YPPEVSVIWT FINGSGTLLC AASGYPPQNV TWLQCSGHTD RCDEAQVLQV WDDPYPEVLS QEPFHKVTVQ SLLTVETLEH NQTYECRAHN SVGSGSWAFI PISAGATHP PDEFLETPVV VACMSIMALL LLLLLLLLLYK YKQKPKYQVR WKIIESYEGN SYTFIDPTQL PYNEKWEFPR NNLQFGKTLG AGAFGKVVEA TAFGLGKEDA VLKVAVKMLK STAHADEKEA LMSELKIMSH LGQHENIVNL LGACTHGGPV LVITEYCCYG DLLNFLRRKA EAMLGPSLSP GQDPEGVDY KNIHLEKKYV RRDSGFSSQG VDTYVEMRPV STSSNDSFSE QDLKEDGRP LELRDLHFS SQVAQGMFL ASKNCIHRDV AARNVLLTNG HVAKIGDFGL ARDIMNDSNY IVKGNARLPV KWMAPESIFD CVYTVQSDVW SYGILLWEIF SLGLNPYPGI LVNSKFYKLV KDGYQMAQPA FAPKNIYSIM QACWALEPTH RPTFQQICSF LQEQAQEDRR ERDYTNLPSS SRSGSGSSS SELEEESSSE HLTCCEQGGI AQPLLQPNNY QFC </p>
2	hCSF1R (полноразмерный+лидерна я последовательность)	<p> MGPGVLLLLL VATAWHGQGI PVIEPSVPEL VVKPGATVTL RCVGNSSVEW DGPPSPHWTL YSDGSSSILS TNNATFQNTG TYRCTEPGDP LGGSAAIHLY VKDPAFPWNV LAQEVVVFED QDALLPCLLT DPVLEAGVSL VVRGRPLMR HTNYSFSPWH GFTIHRAKFI QSQDYQCSAL MGGRKVMSSS IRLKVQKVIP GPPALTLVPA ELVRIRGEAA QIVCSASSVD VNFVFLQHN NTKLAIPQQS DFHNNRYQKV LTLNLDQVDF QHAGNYSCVA SNVQGHST S MFFRVVESAY LNLSEQNLI QEVTVGEGLN LKVMVEAYPG LQGFNWTYLG PFSHQPEPK LANATTKDTY RHTFTLSLPR LKPSEAGRYS FLARNPGGWR ALTFELTLRY PPEVSVIWT FINGSGTLLCA ASGYPPQNVW WLQCSGHTDR CDEAQVLQVW </p>

		<p>DDPYPEVLSQ EPFHKVTVQS LLTVETLEHN QTYECRAHNS VSGSGWAFIP ISAGATHPP DEFLTFVWV ACMSIMALLL LLLLLLYKY KQKPKYQVRW KIIESYEGNS YTFIDPTQLP YNEKWEFPRN NLQFGKTLGA GAFGKVVVEAT AFGLGKEDAV LKVAVKMLKS TAHADEKEAL MSELKIMSHL GQHENIVNLL GACTHGPFVL VITEYCCYGD LLNFLRRKAE AMLGPSLSPG QDPEGVDYK NIHLEKKYVR RDSGFSSQGV DTYVEMRPVS TSSNDSFSEQ DLDKEDGRPL ELRDLLHFSS QVAQGMFLA SKNCIHRDVA ARNVLLTNGH VAKIGDFGLA RDIMNDSNYI VKGNARLPVK WMAPESIFDC VYTVQSDVWS YGILLWEIFS LGLNPYPGIL VNSKFYKLVK DGYQMAQPAF APKNIYSIMQ ACWALEPTHR PTFQQICSFL QEQAQEDRRE RDYTNLPSSS RSGSGSSSSS ELEEESSSEH LTCCEQGDIA QPLLQPNNYQ FC</p>
5	ECD.506 hCSF1R	<p>IPVIEPSVPE LVVKPGATVT LRCVGNNGSVE WDGPPSPHWT LYSDGSSSIL STNNATFQNT GTYRCTEPGD PLGGSAAIHL YVKDPAREWN VLAQEVVVE DQDALLPCLL TDPVLEAGVS LVRVRGRPLM RHTNYSFSPW HGFTIHRAKF IQSQDYQCSA LMGGRKVMSI SIRLKVQKVI PGPPALTLVP AELVRIRGEA AQIVCSASSV DVNFDVFLQH NNTKLAIPOQ SDFHNNRYQK VLTNLNDQVD FQHAGNYSCV ASNVQGKHST SMFFRVVESA YLNLSSSEQNL IQEVTVGEGL NLKVMVEAYP GLQGFNWTYL GPFSDHQPEP KLANATTKDT YRHTFTLSLP RLKPEAGRY SFLARNPGGW RALTFELTLR YPPEVSVIWT FINGSGTLLC AASGYQPQNV TWLQCSGHTD RCDEAQVLQV WDDPYPEVLS QEPFHKVTVQ SLLTVETLEH NQTYECRAHN SVSGSGWAFI PISAGAH</p>
6	ECD.506 hCSF1R-Fc	<p>IPVIEPSVPE LVVKPGATVT LRCVGNNGSVE WDGPPSPHWT LYSDGSSSIL STNNATFQNT GTYRCTEPGD PLGGSAAIHL YVKDPAREWN VLAQEVVVE DQDALLPCLL TDPVLEAGVS LVRVRGRPLM RHTNYSFSPW HGFTIHRAKF IQSQDYQCSA LMGGRKVMSI SIRLKVQKVI PGPPALTLVP AELVRIRGEA AQIVCSASSV</p>

		<p>DVNFDFVLQH NNTKLAI PQQ SDFHNNRYQK VLTNLNDQVD FQHAGNYSCV ASNVQGKHST SMFFRVVESA YLNLSSQNL IQEVTVGEGL NLKVMVEAYP GLQGFWNTYL GPFSDHQPEP KLANATTKDT YRHTFTLSLP RLKPSEAGRY SFLARNPGGW RALTFELTLR YPPEVSVIWT FINGSGTLLC AASGYQPQNV TWLQCSGHTD RCDEAQVLQV WDDPYPEVLS QEPFHKVTVQ SLLTVETLEH NQTYECRAHN SVSGSWAFI PISAGAHEPK SSDKTHTCP CPEPELLGPP SVFLFPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTPPVV DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSQSVM HEALHNYHTQ KSLSLSPGK</p>
7	ECD синоCSF1R (с лидерной последовательностью)	<p>MGPGVLLLLL VVTAWHGQGI PVIEPSGPPEL VVKPGETVTL RCVGNQSVIEW DGPISPHWTL YSDGPPSSVLT TTNATFQNTR TYRCTEPGDP LGGSAAIHLY VKDPAWPWN LAKEVVVFED QDALLPCLLT DPVLEAGVSL VRLRGRPLLR HTNYSFSPWH GFTIHRAKFI QGQDYQCSAL MGSRKVMSIS IRLKVQKVIP GPPALTLVPA ELVRIRGEAA QIVCSASNID VDFDVLQHN TKLAIPQRS DFHDNRYQKV LTLSLGQVDF QHAGNYSCVA SNVQGKHSTS MFFRVVESAY LDLSSEQNLI QEVTVGEGLN LKVMVEAYPG LQGFWNTYLG PFSHDHQPEPK LANATTKDTY RHTFTLSLPR LKPSEAGRYS FLARNPGGWR ALTFELTLRY PPEVSVIWT SINGSGTLLCA ASGYQPQNV WTQCAGHTDR CDEAQVLQVW VDPHPEVLSQ EPFQKVTVQS LLTAETLEHN QTYECRAHNS VSGSWAFIP ISAGAR</p>
8	ECD синоCSF1R-Fc (с лидерной последовательностью)	<p>MGPGVLLLLL VVTAWHGQGI PVIEPSGPPEL VVKPGETVTL RCVGNQSVIEW DGPISPHWTL YSDGPPSSVLT TTNATFQNTR TYRCTEPGDP LGGSAAIHLY VKDPAWPWN LAKEVVVFED QDALLPCLLT DPVLEAGVSL VRLRGRPLLR HTNYSFSPWH GFTIHRAKFI QGQDYQCSAL MGSRKVMSIS IRLKVQKVIP GPPALTLVPA</p>

		ELVRIRGEAA QIVCSASNID VDFDVFLQHN TTKLAI PQRS DFHDNRYQKV LTLSLGQVDF QHAGNYSCVA SNVQGHSTS MFFRVVESAY LDLSSEQNLI QEVTVGEGLN LKVMVEAYPG LQGFNWTYLG PFSHQPEPK LANATTKDXY RHTFTLSLPR LKPSEAGRYS FLARNPGGWR ALTFELTLRY PPEVSVIWTS INGSGLLCA ASGYPQPNVT WLQCAGHTDR CDEAQVLQVW VDPHPEVLSQ EPFQKVTVQS LLTAETLEHN QTYECRAHNS VSGGSWAFIP ISAGARGSEP KSSDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMSRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSGGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFCSSV MHEALHNYT QKSLSLSPGK
3	Лидерная последовательность легкой цепи	METDTLLLWV LLLWVPGSTG
4	Лидерная последовательность тяжелой цепи	MAVLGLLCL VTFPSCVLS
9	Вариабельная область тяжелой цепи Fab 0301	EVQLQQSGPE LVRPGASVKM SCKASGYTFT DNYMIWVKQS HGKSLWIGD INPYNGGTF NQKFKGKATL TVEKSSSTAY MQLNSLTSED SAVYYCARES PYFSNLYVMD YWGQGTSTVTV SS
10	Вариабельная область легкой цепи Fab 0301	NIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCKASQSV YDGDNYMNWY QQKPGQPPKL LIYAASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLNIH PVEEEDAATY YCHLSNEDLS TFGGGTKLEI K
11	Вариабельная область тяжелой цепи Fab 0302	EIQLQQSGPE LVKPGASVKM SCKASGYTFS DFNIHWVKQK PGQGLEWIGY INPYTDVTY NEKFKGKATL TSDRSSSTAY MDLSSLTSED SAVYYCASYF DGTFDYALDY WQGTSTITVS S
12	Вариабельная область легкой цепи Fab 0302	DVVVTQTPAS LAVSLGQRAT ISCRASESVD NYGLSFMNWF QQKPGQPPKL LIYTASNLES GIPARFSGGG SRTDFTLTID PVEADDAATY FCQQSKELPW TFGGGTRLEI K
13	Вариабельная область тяжелой цепи Fab 0311	EIQLQQSGPD LMKPGASVKM SCKASGYIFT DYNMHWVKQN QGKSLWEMGE INPNNGVVVY

036261

		NQKFKGTTTL TVDKSSSTAY MDLHSLTSED SAVYYCTRAL YHSNFGWYFD SWGKGTTLTV SS
14	Вариабельная область легкой цепи Fab 0311	DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCKASQSVD YDGD SHMNWY QQKPGQPPKL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGADFTLTIH PVEEEDAATY YCQQGNEDPW TFGGGTRLEI K
15	CDR1 тяжелой цепи 0301	GYTFTDNYMI
16	CDR2 тяжелой цепи 0301	DINPYNGGTT FNQKFKG
17	CDR3 тяжелой цепи 0301	ESPYFSNLYV MDY
18	CDR1 легкой цепи 0301	KASQSVDYDG DNYMN
19	CDR2 легкой цепи 0301	AASNLES
20	CDR3 легкой цепи 0301	HLSNEDLST
21	CDR1 тяжелой цепи 0302	GYTFSDFNH
22	CDR2 тяжелой цепи 0302	YINPYTDVTV YNEKFKG
23	CDR3 тяжелой цепи 0302	YFDGTFDYAL DY
24	CDR1 легкой цепи 0302	RASESVDNYG LSFMN
25	CDR2 легкой цепи 0302	TASNLES
26	CDR3 легкой цепи 0302	QQSKELPWT
27	CDR1 тяжелой цепи 0311	GYIFTDYNMH
28	CDR2 тяжелой цепи 0311	EINPNNGVVV YNQKFKG
29	CDR3 тяжелой цепи 0311	ALYHSNFGWY FDS
30	CDR1 легкой цепи 0311	KASQSVDYDG DSHMN
31	CDR2 легкой цепи 0311	TASNLES
32	CDR3 легкой цепи 0311	QQGNEDPWT
33	Тяжелая цепь cAb 0301	EVQLQDSGPE LVRPGASVKM SCKASGYTFT DNYMIWVKQS HGKSLIEWIGD INPYNGGTTF NQKFKGKATL TVEKSSSTAY MQLNSLTSED SAVYYCARES PYFSNLYVMD YWGQGTSVTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTFPSSSLGT KTYTCNVDHK PSNTKVDKRV ESKYGPCCPP CPAPEFLGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSQ EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTFPVL DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLGK
34	Легкая цепь cAb 0301	NIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCKASQSVD YDGDNYMNWY QQKPGQPPKL LIYAASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLNIH PVEEEDAATY

		YCHLSNEDLS TFGGGTKLEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
35	Тяжелая цепь сAb 0302	EIQLQQSGPE LVKPGASVKM SCKASGYTFS DFNIHWVKQK PGQGLEWIGY INPYTDVTVY NEKFKGKATL TSDRSSSTAY MDLSSLTSED SAVYYCASYF DGTFDYALDY WGQGTSTITVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFFPAVLQS SGLYLSLSSVV TVPSSSLGTK TYTCNVDHKP SNTKVDKRV SKYGPPCPPC PAPEFLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPSSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLQK
36	Легкая цепь сAb 0302	DVVVTQTPAS LAVSLGQRAT ISCRASEVD NYGLSFMNWF QQKPGQPPKL LIYTASNLES GIPARFSGGG SRTDFTLTID PVEADDAATY FCQQSKELPW TFGGGTRLEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
37	Тяжелая цепь сAb 0311	EIQLQQSGPD LMKPGASVKM SCKASGYIFT DYNMHVVKQN QGKSLWEMGE INPNNGVVVY NQKFKGTTTL TVDKSSSTAY MDLHSLTSED SAVYYCTRAL YHSNFGWYFD SWGKGTTTLTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFFPAVLQ SSGLYLSLSSV TVPSSSLGT KYTCNVDHK PSNTKVDKRV ESKYGPPCPP CPAPEFLGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSQ EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLLSLQK
38	Легкая цепь сAb 0311	DIVLTVQSPAS LAVSLGQRAT ISCKASQSVQ

		YDGD SHMNWY QQKPGQPPKL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGADFTLTIH PVEEEDAATY YCQQGNEDPW TFGGGTRLEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
39	Вариабельная область тяжелой цепи h0301-H0	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFT DNYMIWVRQA PGQGLEWMDG INPYNGGTF NQKFKGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARES PYFSNLYVMD YWGQGLVTV SS
40	Вариабельная область тяжелой цепи h0301-H1	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFT DNYMIWVRQA PGQGLEWMDG INPYNGGTF NQKFKGRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARES PYFSNLYVMD YWGQGLVTV SS
41	Вариабельная область тяжелой цепи h0301-H2	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFT DNYMIWVRQA PGQGLEWIGD INPYNGGTF NQKFKGRATL TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARES PYFSNLYVMD YWGQGLVTV SS
42	Вариабельная область тяжелой цепи h0302-H1	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFS DFNIHWVRQA PGQGLEWMDG INPYTDVTY NEKFKGRVTI TSDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCASYF DGTFDYALDY WGQGLVTVS S
43	Вариабельная область тяжелой цепи h0302-H2	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFS DFNIHWVRQA PGQGLEWIGY INPYTDVTY NEKFKGRATL TSDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCASYF DGTFDYALDY WGQGLVTVS S
44	Вариабельная область тяжелой цепи h0311-H1	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYIFT DYNMHWVRQA PGQGLEWMDG INPNNGVVY NQKFKGRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCTRAL YHSNFGWYFD SWGQGLVTV SS
45	Вариабельная область тяжелой цепи h0311-H2	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYIFT DYNMHWVRQA PGQGLEWMDG INPNNGVVY NQKFKGTTTL TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCTRAL YHSNFGWYFD SWGQGLVTV SS
46	Вариабельная область легкой цепи h0301-L0	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCKASQSD YDGDNYMNWY QQKPGQAPRL LIYAASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCHLSNEDLS TFGGGTKVEI K
47	Вариабельная область легкой цепи h0301-L1	NIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCKASQSD YDGDNYMNWY QQKPGQAPRL LIYAASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCHLSNEDLS TFGGGTKVEI K

036261

48	Вариабельная область легкой цепи H0302-L0	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGLSFMNWF QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDEFAVY YCQQSKELPW TFGQGTKVEI K
49	Вариабельная область легкой цепи H0302-L1	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGLSFMNWF QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SRTDFTLTIS SLEPEDEFAVY YCQQSKELPW TFGQGTKVEI K
50	Вариабельная область легкой цепи H0302-L2	EIVVTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGLSFMNWF QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SRTDFTLTIS SLEPEDEFAVY YCQQSKELPW TFGQGTKVEI K
51	Вариабельная область легкой цепи H0311-L0	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCKASQSV D YDGD SHMNWF QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDEFAVY YCQQGNEDPW TFGQGTKVEI K
52	Вариабельная область легкой цепи H0311-L1	DIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCKASQSV D YDGD SHMNWF QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGADFTLTIS SLEPEDEFAVY YCQQGNEDPW TFGQGTKVEI K
53	Тяжелая цепь h0301-H0	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFT DNYMIWVRQA PGQGLEWMD INPYNGGTF NPKFKGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARES PYFSNLYVMD YWGQGLVTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTPVSSSLGT KTYTCNV DHK PSNTKVDKRV ESKYGPFCPP CPAPEFLGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDV SQ EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLGK
54	Тяжелая цепь h0301-H1	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFT DNYMIWVRQA PGQGLEWMD INPYNGGTF NPKFKGRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARES PYFSNLYVMD YWGQGLVTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTPVSSSLGT KTYTCNV DHK

		PSNTKVDKRV ESKYGPCCPP CPAPEFLGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVVSQ EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLGK
55	Тяжелая цепь h0301-H2	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCRASGYTFT DNYMIWVRQA PGQGLEWIGD INPYNGGTTF NQKFKGRATL TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARES PYFSNLYVMD YWGQGLTVTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV TVPSSSLGT KYTCNVDPHK PSNTKVDKRV ESKYGPCCPP CPAPEFLGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVVSQ EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLGK
56	Тяжелая цепь H0302-H1	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCRASGYTFS DFNIHWVRQA PGQGLEWGMG INPYTDVTVY NEKFKGRVTI TSDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCASYF DGTFDYALDY WGQGLTVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTK TYTCNVDPHK SNTKVDKRVE SKYGPCCPPC PAPEFLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVL DSDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK
57	Тяжелая цепь H0302-H2	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCRASGYTFS DFNIHWVRQA PGQGLEWIGY INPYTDVTVY NEKFKGRATL TSDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCASYF DGTFDYALDY WGQGLTVTVS

		<p>SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSV VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGK TYTCNVDPK SNTKVDKRV SKYGPPCPP PAPEFLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPSSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLKG</p>
58	Тяжелая цепь H0311-H1	<p>QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYIFT DYNMHWVRQA PGQGLEWMGE INPNNGVVVY NQKFKGRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCTRAL YHSNFGWYFD SWGQGLTVTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV TVPSSSLGT KTYTCNVDPK PSNTKVDKRV ESKYGPPCPP CPAPEFLGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSQ EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVLD DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLGK</p>
59	Тяжелая цепь H0311-H2	<p>QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYIFT DYNMHWVRQA PGQGLEWMGE INPNNGVVVY NQKFKGTTTL TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCTRAL YHSNFGWYFD SWGQGLTVTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV TVPSSSLGT KTYTCNVDPK PSNTKVDKRV ESKYGPPCPP CPAPEFLGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSQ EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVLD DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLGK</p>
60	Легкая цепь h0301-L0	<p>EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCKASQSV</p>

		YDGDNYMNWY QQKPGQAPRL LIYAASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCHLSNEDLS TFGGGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
61	Легкая цепь h0301-L1	NIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCKASQSVD YDGDNYMNWY QQKPGQAPRL LIYAASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCHLSNEDLS TFGGGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
62	Легкая цепь H0302-L0	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGLSFMNWX QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCQQSKELPW TFGQGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
63	Легкая цепь H0302-L1	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGLSFMNWX QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SRTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCQQSKELPW TFGQGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
64	Легкая цепь H0302-L2	EIVVTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGLSFMNWF QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SRTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCQQSKELPW TFGQGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
65	Легкая цепь H0311-L0	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCKASQSVD YDGDSHMNWY QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCQQGNEDPW TFGQGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
66	Легкая цепь H0311-L1	DIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCKASQSVD

		YDGDSHMNWY QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGADFTLTIS SLEPEDFAVY YCQQGNEDPW TFGQGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLs STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
67	CSF1 человека	EEVSEYCSHM IGSGLHLSLQ RLIDSQMETs CQITFEFVDQ EQLKDPVCYL KKAFLLVQDI MEDTMRFRDN TPNAlAlVQL QELSLRLKSC FTKDYEEHDK ACVRTFYETP LQLEKVKNV FNETKNLLDK DWNlFSKNCN NSFACSSQG HERQSEGS
68	ИЛ-34 человека	NEFLEMWPLT QNEECTVTGF LRDKLQYRSR LQYMKHYFPI NYKISVPYEG VFRIANVTRL QRAQVSEREL RYLWVLVSLsATESVQDVLL EGHPSWKYLQ EVQTLNlLVQ QGLTDVEVSP KVESVLsLLN APGNLKLVR PKALLDNCFR VMELLYCSCC KQSSVLNWQD CEVPSPOSCS PEPSLQYAAT QLYPPPPWSP SSPPHSTGSV RFPVRAQGEGL LP
69	FR1 акцепторного антитела человека А	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKAS
70	FR2 акцепторного антитела человека А	WVRQAPGQGL EWMG
71	FR3 акцепторного антитела человека А	RVTITADKST STAYMELSSL RSEDtAVYYC AR
72	FR4 акцепторного антитела человека А	WGQGTlLVTVS S
73	FR1 акцепторного антитела человека В	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKAS
74	FR2 акцепторного антитела человека В	WVRQAPGQGL EWMG
75	FR3 акцепторного антитела человека В	RVTITADKST STAYMELSSL RSEDtAVYYC AR
76	FR4 акцепторного антитела человека В	WGQGTlLVTVSS
77	FR1 акцепторного антитела человека С	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKAS
78	FR2 акцепторного антитела человека С	WVRQAPGQGL EWMG
79	FR3 акцепторного антитела человека С	RVTITADKST STAYMELSSL RSEDtAVYYC AR
80	FR4 акцепторного	WGQGTlLVTVS S

	антитела человека C	
81	FR1 акцепторного антитела человека D	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSC
82	FR2 акцепторного антитела человека D	WYQQKPGQAP RLLIY
83	FR3 акцепторного антитела человека D	GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YC
84	FR4 акцепторного антитела человека D	FGGGTKVEIK
85	FR1 акцепторного антитела человека E	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSC
86	FR2 акцепторного антитела человека E	WYQQKPGQAP RLLIY
87	FR3 акцепторного антитела человека E	GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YC
88	FR4 акцепторного антитела человека E	FGGGTKVEIK
89	FR1 акцепторного антитела человека F	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSC
90	FR2 акцепторного антитела человека F	WYQQKPGQAP RLLIY
91	FR3 акцепторного антитела человека F	GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YC
92	FR4 акцепторного антитела человека F	FGGGTKVEIK
93	ECD mCSF1R-Fc	APVIEPSGPE LVVEPGETVT LRCVSNNGSVE WDGPISPYWT LDPESPGSTL TTPHKTFKNT GTYRCTELED PMAGSTIHL YVKDPAHSWN LLAQEVTVVE GQEAVLPCLI TDPALKDSVS LMREGGRQVL RKTVYFFSPW RGFIIIRKAV LDSNTYVCKT MVNGRESTST GIWLKVNVRH PEPPQIKLEP SKLVRIRGEA AQIVCSATNA EVGENVILKR GDTKLEIPLN SDFQDNYKK VRALSLNAVD FQDAGIYSCV ASNDVGTRTA TMNFQVVESA YLNLTSQSL LQEVSVGDSL ILTVHADAYP SIQHYNWYTL GPFEDQRKL EFITQRAIYR YTFKFLNRRV KASEAGQYFL MAQNKAGWNN LTFELTLRYP PEVSVTWMPV NGSDVLFCDV SGYPQPSVTW MECRGHTDRC DEAQAALQVWN DTHPEVLSQK PFDKVIQSQ LPIGTLKHMN TYFCKTHNSV GNSSQYFRAV SLGQSKQEPK SSDKTHTCP CPAPPELLGGP

		SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK
94	IgG4 S241P человека	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRVES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPQSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK
95	Igк человека	RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC
96	Предшественник PD-1 человека (с сигнальной последовательностью) UniProtKB/Swiss-Prot: Q15116,3, 01-ОCT-2014	MQIPQAPWPV VVAVLQLGWR PGWFLDSPDR PWNPTTFSPA LLVVTEGDNA TFTCSFSNTS ESFVLNWRM SPSNQTDKLA AFPEDRSQPG QDCFRVTQL PNGRDFHMSV VRARRNDSGT YLCGAI SLAP KAQIKESLRA ELRVTERRAE VPTAHPSPSP RPAGQFQTLV VGVVGGLLGS LVLLVWVLAV ICSRAARGTI GARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW REKTPEPPVP CVPEQTEYAT IVFPSGMGTS SPARRGSADG PRSAQPLRPE DGHCSWPL
97	PD-1 человека (зрелый, без сигнальной последовательности)	PGWFLDSPDR PWNPTTFSPA LLVVTEGDNA TFTCSFSNTS ESFVLNWRM SPSNQTDKLA AFPEDRSQPG QDCFRVTQL PNGRDFHMSV VRARRNDSGT YLCGAI SLAP KAQIKESLRA ELRVTERRAE VPTAHPSPSP RPAGQFQTLV VGVVGGLLGS LVLLVWVLAV ICSRAARGTI GARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW REKTPEPPVP CVPEQTEYAT IVFPSGMGTS SPARRGSADG PRSAQPLRPE DGHCSWPL
98	Предшественник PD-L1	MRIFAVFIEM TYWHLLNAFT VTVPKDLYVV

	человека (с сигнальной последовательностью) UniProtKB/Swiss-Prot: Q9NZQ7, 1, 01-ОСТ-2014	EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS YRQRARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV NAPYNKINQR ILVVDPTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTLRLIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEIUIPELP LAHPPNERTH LVILGAILLC LGVALTFIFR LRKGRMMDVK KCGIQDTNSK KQSDTHLEET
99	PD-L1 человека (зрелый, без сигнальной последовательности)	FT VTVPKDLYVV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS YRQRARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV NAPYNKINQR ILVVDPTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTLRLIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEIUIPELP LAHPPNERTH LVILGAILLC LGVALTFIFR LRKGRMMDVK KCGIQDTNSK KQSDTHLEET
100	Вариабельная область тяжелой цепи ниволумаба	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAP GKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQ MNSLRAEDTAVYYCATNDYWGQGLTVTVSS
101	Константная область тяжелой цепи ниволумаба	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGKTKYT CNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVFQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNNHYTQKSLSLSLGK
102	Вариабельная область легкой цепи ниволумаба	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSDFTLTITSSLEPED FAVYYCQSSNWPRTFGQGTKEIK
103	Константная область легкой цепи ниволумаба	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
104	FR1 вариабельной области тяжелой цепи ниволумаба	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFS
105	CDR1 вариабельной области тяжелой цепи ниволумаба	NSGMH

106	FR2 варибельной области тяжелой цепи ниволумаба	WVRQAPGKGLEWVA
107	CDR2 варибельной области тяжелой цепи ниволумаба	VIWYDGSKRYYADSVKG
108	FR3 варибельной области тяжелой цепи ниволумаба	RFTISRDNKNTLFLQMNLSLAEDTAVYYCAT
109	CDR3 варибельной области тяжелой цепи ниволумаба	NDDY
110	FR4 варибельной области тяжелой цепи ниволумаба	WGQGLVTVSS
111	FR1 варибельной области легкой цепи ниволумаба	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC
112	CDR1 варибельной области легкой цепи ниволумаба	RASQSVSSYLA
113	FR2 варибельной области легкой цепи ниволумаба	WYQQKPGQAPRLLIY
114	CDR2 варибельной области легкой цепи ниволумаба	DASNRAT
115	FR3 варибельной области легкой цепи ниволумаба	GIPARFSGSGSDFTLTISLSEPEDFAVYYC
116	CDR3 варибельной области легкой цепи ниволумаба	QQSSNPWPT
117	FR4 варибельной области легкой цепи ниволумаба	FGQGTKVEIK

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения злокачественного новообразования у индивидуума, включающий введение индивидууму антитела против CSF1R и ингибитора PD-1/PD-L1, где антитело против CSF1R выбрано из

а) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 39, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 46;

б) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую CDR1 тяжелой цепи (HC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 15, CDR2 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 16, и CDR3 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 17, и легкую цепь, содержащую CDR1 легкой цепи (LC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 18, CDR2 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 19, и CDR3 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 20; и

с) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 60; и

где ингибитор PD-1/PD-L1 является антителом против PD-1, выбранным из

а) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую варибельную область тяжелой цепи ниволумаба, и легкую цепь, содержащую варибельную область легкой цепи ниволумаба; и

б) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую CDR тяжелой цепи ниволумаба, и легкую цепь, содержащую CDR легкой цепи ниволумаба.

2. Способ по п.1, где ингибитор PD-1/PD-L1 является ниволумабом.

3. Способ по п.1 или 2, где антитело против CSF1R содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 60.

4. Способ по пп.1, 2 или 3, где антитело против CSF1R и ингибитор PD-1/PD-L1 вводят одновре-

менно или последовательно.

5. Способ по п.4, где антитело против CSF1R и ингибитор PD-1/PD-L1 вводят одновременно.
6. Способ по п.5, где одну или несколько доз ингибитора PD-1/PD-L1 вводят перед введением антитела против CSF1R.
7. Способ по п.6, где индивидууму проводили полный курс терапии ингибитором PD-1/PD-L1 перед введением антитела против CSF1R.
8. Способ по п.6, где антитело против CSF1R вводят в течение второго курса терапии ингибитором PD-1/PD-L1.
9. Способ по п.6, где индивидууму вводят по меньшей мере одну, по меньшей мере две, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре дозы ингибитора PD-1/PD-L1 перед введением антитела против CSF1R.
10. Способ по п.4, где по меньшей мере одну дозу ингибитора PD-1/PD-L1 вводят одновременно с антителом против CSF1R.
11. Способ по п.4, где одну или несколько доз антитела против CSF1R вводят перед введением ингибитора PD-1/PD-L1.
12. Способ по п.11, где индивидууму вводили по меньшей мере две, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре дозы антитела против CSF1R перед введением ингибитора PD-1/PD-L1.
13. Способ по п.11, где по меньшей мере одну дозу антитела против CSF1R вводят одновременно с ингибитором PD-1/PD-L1.
14. Способ по любому из пп.1-13, где антитело против CSF1R вводят в дозе 0,1, 0,3, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 или 10 мг/кг.
15. Способ по п.14, где антитело против CSF1R вводят в дозе 1, 2 или 4 мг/кг.
16. Способ по любому из пп.1-15, где ингибитор PD-1/PD-L1 вводят в дозе 0,5-10 мг/кг, например в дозе 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 или 10 мг/кг.
17. Способ по любому из пп.1-15, где антитело против CSF1R и ингибитор PD-1/PD-L1 вводят один раз в 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели или 5 недель, например раз в неделю или, например, раз каждые 2 недели или раз каждые 3 недели.
18. Способ по любому из пп.1-17, где злокачественное новообразование выбрано из немелкоклеточного рака легких, меланомы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, рака яичников, рака поджелудочной железы, почечноклеточной карциномы, печеночноклеточной карциномы, рака мочевого пузыря, злокачественной глиомы, колоректального рака и рака эндометрия.
19. Способ по п.18, где злокачественное новообразование является рецидивирующим или прогрессирующим после терапии, выбранной из хирургического лечения, химиотерапии, лучевой терапии или их комбинации.
20. Способ по любому из пп.1-19, где введение антитела против CSF1R и ингибитора PD-1/PD-L1 приводит к синергическому ингибированию роста опухоли в мышинной модели злокачественного новообразования.
21. Способ по п.20, где злокачественное новообразование является раком толстого кишечника, прямой кишки или колоректальным раком, и мышинная модель содержит клетки колоректальной карциномы, такие как клетки колоректальной карциномы MC38.
22. Способ по п.20, где злокачественное новообразование является раком поджелудочной железы, и мышинная модель содержит клетки протоковой аденокарциномы поджелудочной железы (PDAC) мыши, такие как клетки протоковой аденокарциномы поджелудочной железы KRasG12D/Ink4a^{-/-}.
23. Способ по любому из пп.1-22, где антитело против CSF1R вводят в дозе 1, 2, 3 или 4 мг/кг.
24. Способ по п.23, где ингибитор PD-1/PD-L1 вводят в дозе 3 мг/кг.
25. Способ лечения злокачественного новообразования у индивидуума, включающий введение индивидууму антитела против CSF1R и антитела против PD-1;
 - (a) где злокачественное новообразование является немелкоклеточным раком легких (NSCLC), меланомой, плоскоклеточной карциномой головы и шеи (SCCHN), раком поджелудочной железы, колоректальным раком, раком яичников, почечноклеточной карциномой или злокачественной глиомой;
 - (b) где антитело против CSF1R вводят в дозе 1, 2, 3 или 4 мг/кг каждые две недели, и антитело против PD-1 вводят в дозе 3 мг/кг каждые две недели;
 - (c) где антитело против PD-1 выбрано из
 - i) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую вариабельную область тяжелой цепи ниволумаба, и легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи ниволумаба; и
 - ii) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую CDR тяжелой цепи ниволумаба, и легкую цепь, содержащую CDR легкой цепи ниволумаба; и
 - (d) где антитело против CSF1R выбрано из
 - i) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 39, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 46;
 - ii) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую CDR1 тяжелой цепи (HC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 15, CDR2 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 16, и CDR3 HC,

имеющую последовательность SEQ ID NO: 17, и легкую цепь, содержащую CDR1 легкой цепи (LC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 18, CDR2 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 19, и CDR3 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 20; и

iii) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 60.

26. Способ по п.25, где антителом против PD-1 является ниволумаб.

27. Способ по п.25, где антитело против CSF1R содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 60.

28. Способ по п.25, где антитело против CSF1R содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 60, и где антителом против CSF1R является ниволумаб.

29. Фармацевтическая композиция для лечения злокачественных новообразований у индивидуума, содержащая антитело против CSF1R и антитело против PD-1;

(a) где антитело против CSF1R выбрано из

i) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 39, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 46;

ii) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую CDR1 тяжелой цепи (HC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 15, CDR2 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 16, и CDR3 HC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 17, и легкую цепь, содержащую CDR1 легкой цепи (LC), имеющую последовательность SEQ ID NO: 18, CDR2 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 19, и CDR3 LC, имеющую последовательность SEQ ID NO: 20; и

iii) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, содержащую последовательность SEQ ID NO: 60;

(b) где антитело против PD-1 выбрано из

i) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую вариабельную область тяжелой цепи ниволумаба, и легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи ниволумаба; и

ii) антитела, содержащего тяжелую цепь, содержащую CDR тяжелой цепи ниволумаба, и легкую цепь, содержащую CDR легкой цепи ниволумаба.

№ п/п	Цепи L/H	Именован. CDR1																																											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20																								
Родительское акцепторное антитело A сAb301		Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	P	G	Q	
Ab1	h0301-L0H0	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	P	G	Q	
Ab2	h0301-L0H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	P	G	Q	
Ab3	h0301-L0H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	P	G	Q	
Ab4	h0301-L1H0	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	P	G	Q	
Ab5	h0301-L1H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	P	G	Q	
Ab6	h0301-L1H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	P	G	Q	
Родительское акцепторное антитело B сAb302		H	I	Q	L	Q	Q	S	G	P	R	L	V	K	P	G	A	S	V	K	M	E	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	S	D	F	N	I	H	W	V	K	Q	K	P	G	Q
Ab7	h0302-L0H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	S	D	F	N	I	H	W	V	R	Q	A	P	G	Q	
Ab8	h0302-L1H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	S	D	F	N	I	H	W	V	R	Q	A	P	G	Q	
Ab9	h0302-L2H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	S	D	F	N	I	H	W	V	R	Q	A	P	G	Q	
Ab10	h0302-L0H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	S	D	F	N	I	H	W	V	R	Q	A	P	G	Q	
Ab11	h0302-L1H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	S	D	F	N	I	H	W	V	R	Q	A	P	G	Q	
Ab12	h0302-L2H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	S	D	F	N	I	H	W	V	R	Q	A	P	G	Q	
Родительское акцепторное антитело C сAb311		H	I	Q	L	Q	Q	S	G	P	R	L	V	K	P	G	A	S	V	K	M	E	S	C	K	A	S	G	Y	I	F	T	D	Y	N	M	H	W	V	K	Q	N	P	G	Q
Ab13	h0311-L0H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	I	F	T	D	Y	N	M	H	W	V	R	Q	A	P	G	Q	
Ab14	h0311-L1H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	I	F	T	D	Y	N	M	H	W	V	R	Q	A	P	G	Q	
Ab15	h0311-L0H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	I	F	T	D	Y	N	M	H	W	V	R	Q	A	P	G	Q	
Ab16	h0311-L1H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	I	F	T	D	Y	N	M	H	W	V	R	Q	A	P	G	Q	

Фиг. 1А

Ab ID	Цели L/H	CDR#2																																														
		44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82								
Родительское акцепторное антигено A сAb301		S	L	E	W	M	M	G	D	I	N	P	Y	N	G	G	T	T	F	N	Q	K	F	F	K	K	G	G	R	R	V	T	I	T	A	D	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L
Ab1	h0301-L0H0	G	L	E	W	M	M	G	D	I	N	P	Y	N	G	G	T	T	F	N	Q	K	F	F	K	K	G	G	R	R	V	T	I	T	A	D	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L
Ab2	h0301-L0H1	G	L	E	W	M	M	G	D	I	N	P	Y	N	G	G	T	T	F	N	Q	K	F	F	K	K	G	G	R	R	V	T	I	T	A	D	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L
Ab3	h0301-L0H2	G	L	E	W	M	M	G	D	I	N	P	Y	N	G	G	T	T	F	N	Q	K	F	F	K	K	G	G	R	R	V	T	I	T	A	D	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L
Ab4	h0301-L1H0	G	L	E	W	M	M	G	D	I	N	P	Y	N	G	G	T	T	F	N	Q	K	F	F	K	K	G	G	R	R	V	T	I	T	A	D	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L
Ab5	h0301-L1H1	G	L	E	W	M	M	G	D	I	N	P	Y	N	G	G	T	T	F	N	Q	K	F	F	K	K	G	G	R	R	V	T	I	T	A	D	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L
Ab6	h0301-L1H2	G	L	E	W	M	M	G	D	I	N	P	Y	N	G	G	T	T	F	N	Q	K	F	F	K	K	G	G	R	R	V	T	I	T	A	D	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L
Родительское акцепторное антигено B сAb302		G	L	E	W	M	M	G	Y	I	N	P	Y	T	D	V	T	V	Y	N	E	K	F	F	K	K	G	G	R	R	V	T	I	T	A	D	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L
Ab7	h0302-L0H1	G	L	E	W	M	M	G	Y	I	N	P	Y	T	D	V	T	V	Y	N	E	K	F	F	K	K	G	G	R	R	V	T	I	T	A	D	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L
Ab8	h0302-L1H1	G	L	E	W	M	M	G	Y	I	N	P	Y	T	D	V	T	V	Y	N	E	K	F	F	K	K	G	G	R	R	V	T	I	T	A	D	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L
Ab9	h0302-L2H1	G	L	E	W	M	M	G	Y	I	N	P	Y	T	D	V	T	V	Y	N	E	K	F	F	K	K	G	G	R	R	V	T	I	T	A	D	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L
Ab10	h0302-L0H2	G	L	E	W	M	M	G	Y	I	N	P	Y	T	D	V	T	V	Y	N	E	K	F	F	K	K	G	G	R	R	V	T	I	T	A	D	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L
Ab11	h0302-L1H2	G	L	E	W	M	M	G	Y	I	N	P	Y	T	D	V	T	V	Y	N	E	K	F	F	K	K	G	G	R	R	V	T	I	T	A	D	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L
Ab12	h0302-L2H2	G	L	E	W	M	M	G	Y	I	N	P	Y	T	D	V	T	V	Y	N	E	K	F	F	K	K	G	G	R	R	V	T	I	T	A	D	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L
Родительское акцепторное антигено C сAb311		S	L	E	W	M	M	G	E	I	N	P	N	G	V	V	Y	N	Q	K	F	F	K	K	G	G	T	T	L	T	V	D	K	S	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L				
Ab13	h0311-L0H1	G	L	E	W	M	M	G	E	I	N	P	N	G	V	V	Y	N	Q	K	F	F	K	K	G	G	R	R	V	T	I	T	A	D	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L		
Ab14	h0311-L1H1	G	L	E	W	M	M	G	E	I	N	P	N	G	V	V	Y	N	Q	K	F	F	K	K	G	G	R	R	V	T	I	T	A	D	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L		
Ab15	h0311-L0H2	G	L	E	W	M	M	G	E	I	N	P	N	G	V	V	Y	N	Q	K	F	F	K	K	G	G	R	R	V	T	I	T	A	D	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L		
Ab16	h0311-L1H2	G	L	E	W	M	M	G	E	I	N	P	N	G	V	V	Y	N	Q	K	F	F	K	K	G	G	R	R	V	T	I	T	A	D	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	R	L		

Фиг. 1B

Ab ID	Цели L/H	CDR#3																																		Ab ID					
		82A	82B	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	100a	100b	100c	100d	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110		111	112	113		
Родительское акцепторное антигено A сAb301		N	S	L	T	S	R	D	S	A	V	Y	Y	C	A	R	E	S	P	Y	F	S	N	L	Y	V	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	69-72
Ab1	h0301-L0H0	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	E	S	P	Y	F	S	N	L	Y	V	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	39
Ab2	h0301-L0H1	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	E	S	P	Y	F	S	N	L	Y	V	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	40
Ab3	h0301-L0H2	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	E	S	P	Y	F	S	N	L	Y	V	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	41
Ab4	h0301-L1H0	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	E	S	P	Y	F	S	N	L	Y	V	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	39
Ab5	h0301-L1H1	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	E	S	P	Y	F	S	N	L	Y	V	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	40
Ab6	h0301-L1H2	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	E	S	P	Y	F	S	N	L	Y	V	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	41
Родительское акцепторное антигено B сAb302		S	S	L	T	S	R	D	S	A	V	Y	Y	C	A	S	Y	F	D	D	G	T	F	D	Y	A	L	D	Y	W	G	Q	G	T	S	I	T	V	S	S	73-76
Ab7	h0302-L0H1	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	S	Y	F	D	D	G	T	F	D	Y	A	L	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	42
Ab8	h0302-L1H1	S	S	L	R	S	R	D	T	A	V	Y	Y	C	A	S	Y	F	D	D	G	T	F	D	Y	A	L	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	42
Ab9	h0302-L2H1	S	S	L	R	S	R	D	T	A	V	Y	Y	C	A	S	Y	F	D	D	G	T	F	D	Y	A	L	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	42
Ab10	h0302-L0H2	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	S	Y	F	D	D	G	T	F	D	Y	A	L	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	43
Ab11	h0302-L1H2	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	S	Y	F	D	D	G	T	F	D	Y	A	L	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	43
Ab12	h0302-L2H2	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	S	Y	F	D	D	G	T	F	D	Y	A	L	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	43
Родительское акцепторное антигено C сAb311		H	S	L	T	S	R	D	S	A	V	Y	Y	C	T	R	A	L	Y	H	S	N	F	G	W	Y	F	D	S	W	G	R	G	T	L	T	V	S	S	13	
Ab13	h0311-L0H1	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	R	A	L	Y	H	S	N	F	G	W	Y	F	D	S	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	77-80
Ab14	h0311-L1H1	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	R	A	L	Y	H	S	N	F	G	W	Y	F	D	S	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	44
Ab15	h0311-L0H2	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	R	A	L	Y	H	S	N	F	G	W	Y	F	D	S	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	44
Ab16	h0311-L1H2	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	R	A	L	Y	H	S	N	F	G	W	Y	F	D	S	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	45

Фиг. 1C

Ab ID	Цели L/H	CDR#1																																								
		24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64
Родительское акцепторное антигено D сAb301		E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	L	S	P	G	E	R	R	A	T	L	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	N	Y	M	N
Ab1	h0301-L0H0	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	L	S	P	G	E	R	R	A	T	L	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	N	Y	M	N
Ab2	h0301-L0H1	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	L	S	P	G	E	R	R	A	T	L	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	N	Y	M	N
Ab3	h0301-L0H2	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	L	S	P	G	E	R	R	A	T	L	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	N	Y	M	N
Ab4	h0301-L1H0	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	L	S	P	G	E	R	R	A	T	L	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	N	Y	M	N
Ab5	h0301-L1H1	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	L	S	P	G	E	R	R	A	T	L	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D				

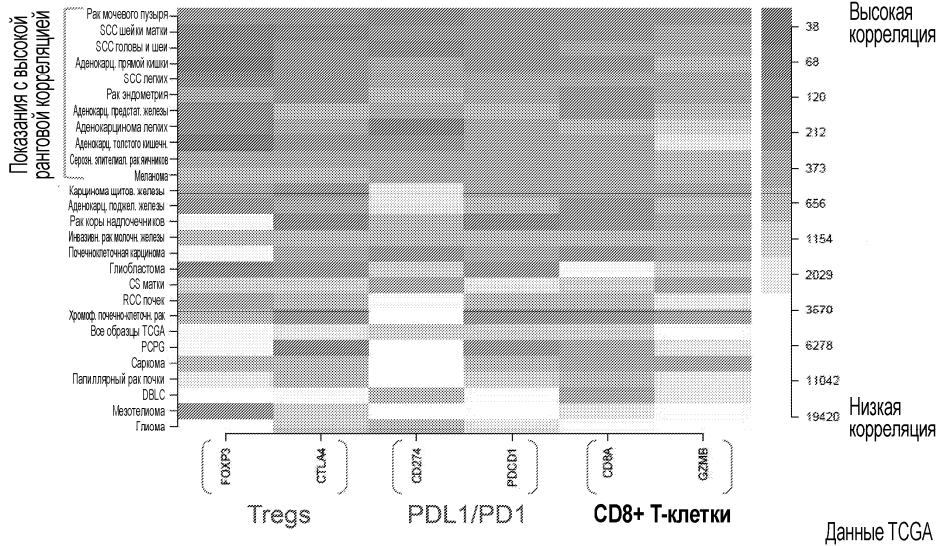
Ab ID	Цепи L/H	CDRL2																																	
		30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60			
Родительское ацепторное антигено D cAb301		W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D
Ab1	h0301-L0H0	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D
Ab2	h0301-L0H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D
Ab3	h0301-L0H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D
Ab4	h0301-L1H0	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D
Ab5	h0301-L1H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D
Ab6	h0301-L1H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D
Родительское ацепторное антигено E cAb302		W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D
Ab7	h0302-L0H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D
Ab8	h0302-L1H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D
Ab9	h0302-L2H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D
Ab10	h0302-L0H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D
Ab11	h0302-L1H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D
Ab12	h0302-L2H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D
Родительское ацепторное антигено F cAb311		W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D
Ab13	h0311-L0H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D
Ab14	h0311-L1H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D
Ab15	h0311-L0H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D
Ab16	h0311-L1H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	T	D

Фиг. 2B

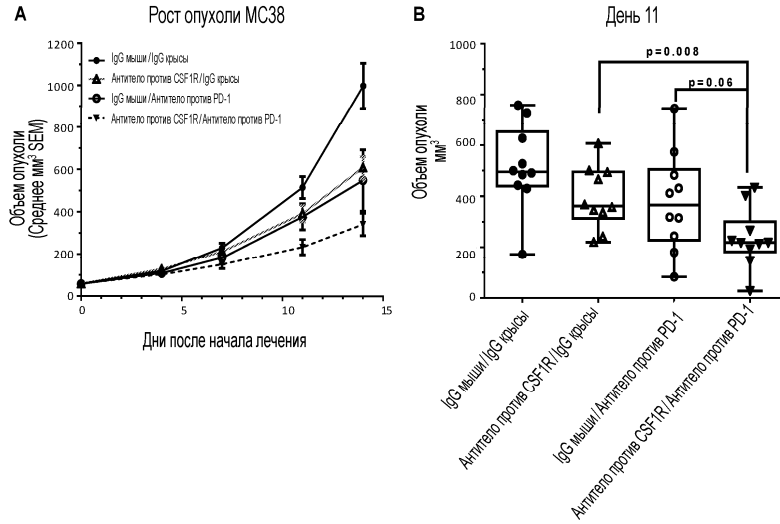
Ab ID	Цепи L/H	CDRL3																												SBO ID								
		72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99		100	101	102	103	104	105	106	107
Родительское ацепторное антигено D cAb301		F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K
Ab1	h0301-L0H0	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K
Ab2	h0301-L0H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K
Ab3	h0301-L0H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K
Ab4	h0301-L1H0	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K
Ab5	h0301-L1H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K
Ab6	h0301-L1H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K
Родительское ацепторное антигено E cAb302		F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	G	G	T	R	L	E	I	K
Ab7	h0302-L0H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K
Ab8	h0302-L1H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K
Ab9	h0302-L2H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K
Ab10	h0302-L0H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K
Ab11	h0302-L1H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K
Ab12	h0302-L2H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K
Родительское ацепторное антигено F cAb311		F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	G	N	E	D	P	W	T	F	G	G	G	T	R	L	E	I	K
Ab13	h0311-L0H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	G	N	E	D	P	W	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K
Ab14	h0311-L1H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	G	N	E	D	P	W	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K
Ab15	h0311-L0H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	G	N	E	D	P	W	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K
Ab16	h0311-L1H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	G	N	E	D	P	W	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K

Фиг. 2C

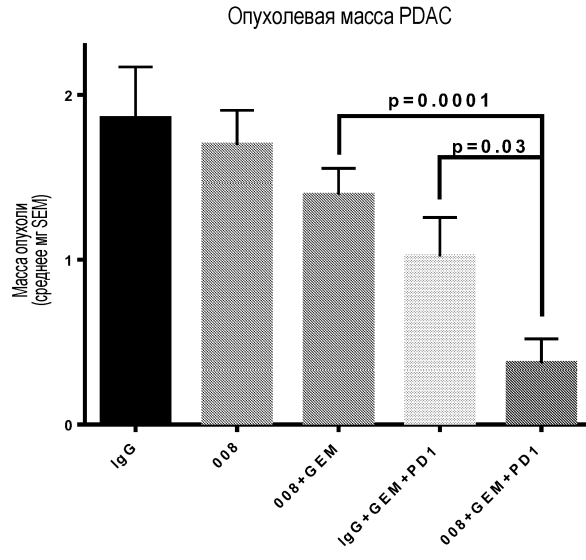
Ранг корреляции с CSF1R



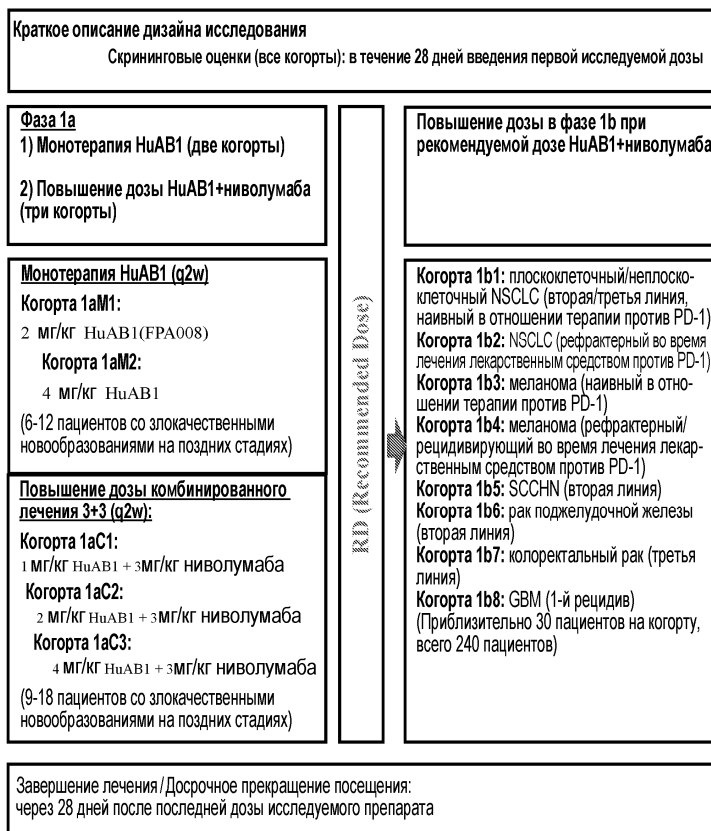
Фиг. 3



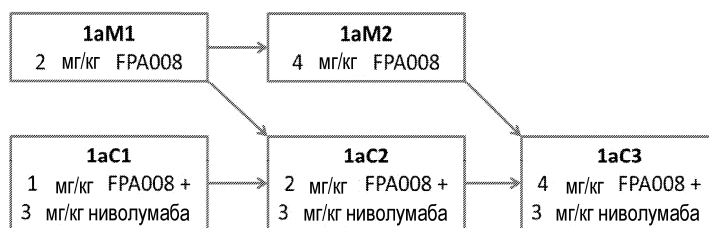
Фиг. 4А и 4В



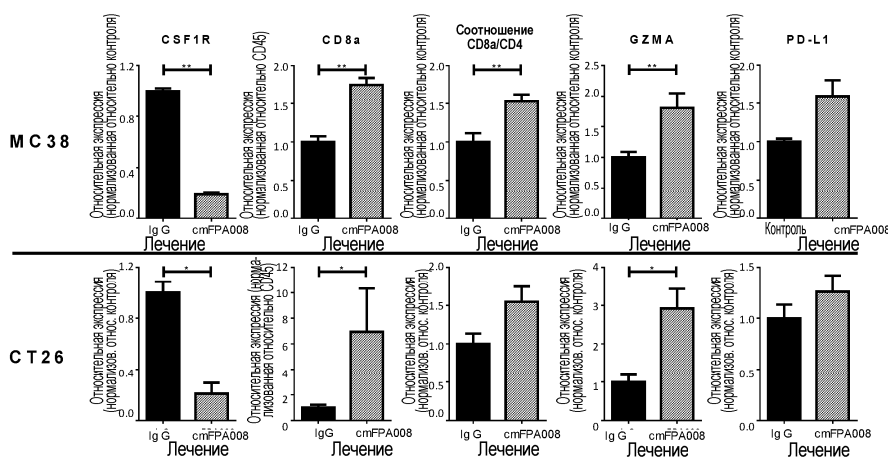
Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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