

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201992633 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.04.08

(51) Int. Cl. G01N 33/574 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.05.30

(54) ЛЕЧЕНИЕ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ПО LAG-3 ОПУХОЛЕЙ

(31) 62/512,648; 62/513,813; 62/555,176;
62/582,178

(32) 2017.05.30; 2017.06.01; 2017.09.07;
2017.11.06

(33) US

(86) PCT/US2018/035134

(87) WO 2018/222718 2018.12.06

(71) Заявитель:
БРИСТОЛ-МАЕРС СКВИББ
КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:
Новотный Джемс, мл., Лонберг Нилс,
Хедват Сайрус, Клайнс Рафаэль, Локе
Даррен, Когсвелл Джон П., Джексон
Джеффри, Харбисон Кристофер,
Эдвардс Робин (US)

(74) Представитель:
Глухарёва А.О., Угрюмов В.М.,
Гизатуллин Ш.Ф. (RU)

(57) Изобретение относится к способу лечения опухоли у пациента-человека, включающему (i) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 опухоль и (ii) введение пациенту ингибитора пути PD-1, комбинации ингибитора пути PD1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа, комбинации ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1 или антитела против CTLA4. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ дополнительно включает идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 и положительную по PD-L1 опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1. Способы по изобретению могут улучшать показатели ответа на лечение ингибитором пути PD-1, комбинацией ингибитора пути PD1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа или комбинацией ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1.

A1

201992633

201992633

A1

ЛЕЧЕНИЕ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ПО LAG-3 ОПУХОЛЕЙ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

По этой заявке испрашивается приоритет по Предварительным Заявкам США No. 62/512,648, поданной 30 мая 2017 г.; 62/513,813, поданной 1 июня 2017 г.; 62/555,176, поданной 7 сентября 2017 г.; и 62/582,178, поданной 6 ноября 2017 г., которые включены в настоящий документ посредством отсылки в полном объеме.

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способам лечения положительной по LAG-3 злокачественной опухоли у пациента-человека с помощью ингибитора пути PD-1, комбинации ингибитора пути PD1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа, комбинации ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1 или антитела против CTLA-4.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Ген-3 активации лимфоцитов (LAG-3; CD223) представляет собой трансмембранный белок типа I, который экспрессируется на клеточной поверхности активированных CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток и подмножеств NK и дендритных клеток (Triebel F, et al., J. Exp. Med. 1990; 171:1393-1405; Workman C J, et al., J. Immunol. 2009; 182(4):1885-91). LAG-3 тесно связан с CD4, который является корецептором активации Т-хелперных клеток. Обе молекулы имеют 4 внеклеточных Ig-подобных домена и требуют связывания со своим лигандом, главным комплексом гистосовместимости (МНС) класса II, для их функциональной активности. В отличие от CD4, LAG-3 экспрессируется только на клеточной поверхности активированных Т-клеток, и его отщепление от клеточной поверхности прекращает передачу сигналов LAG-3. LAG-3 также может быть найден в виде растворимого белка, но он не связывается с МНС класса II, и функция растворимого LAG-3 неизвестна.

Сообщалось, что LAG-3 играет важную роль в стимулировании регуляторной активности Т-клеток (Treg) и в отрицательной регуляции активации и пролиферации Т-клеток (Workman C J, et al., J. Immunol. 2005; 174:688-695). Как природный, так и индуцированный Treg экспрессируют повышенный уровень LAG-3, который необходим для их максимальной супрессивной функции (Camisaschi C, et al., J. Immunol. 2010; 184:6545-6551 and Huang C T, et al., Immunity. 2004; 21:503-513). Кроме того,

эктопическая экспрессия LAG-3 на CD4+ эффекторных Т-клетках снижает их пролиферативную способность и наделяет их регуляторным потенциалом против сторонних Т-клеток (Huang C T, et al., *Immunity*. 2004; 21:503-513). Недавние исследования также показали, что высокая экспрессия LAG-3 на истощенных CD8+ Т-клетках, специфичных к вирусу лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), вносит вклад в их невосприимчивое состояние и ограничивает противоопухолевые ответы CD8+ Т-клеток (Blackburn S D, et al., *Nat. Immunol.* 2009; 10:29-37 and Grosso J F, et al., *J. Clin. Invest.* 2007; 117:3383-3392). Фактически, LAG-3 поддерживал толерантность к собственным и опухолевым антигенам посредством прямого воздействия на CD8+ Т-клетки в 2 мышинных моделях (Grosso J F, et al., *J. Clin. Invest.* 2007; 117:3383-3392).

Однако иммунная толерантность, наблюдаемая в условиях развития опухоли и рецидива опухоли, по-видимому, опосредована коэкспрессией различных Т-клеточных отрицательных регуляторных рецепторов, а не только LAG-3. Данные моделей хронической вирусной инфекции (Blackburn S D, et al., *Nat. Immunol.* 2009; 10:29-37, Grosso J F, et al., *J. Clin. Invest.* 2007; 117:3383-3392 и Lyford-Pike S, et al., *Cancer Res.* 2013; 73(6):1733-41), нокаутированных мышей (Woo S R, et al., *Cancer Res.* 2012; 72:917-927; Okazaki T, et al., *J. Exp Med.* 2011; 208:395-407 и Bettini M. et al., *J. Immunol.* 2011; 187:3493-3498), моделей рецидива опухоли (Goding S R, et al., *J. Immunol.* 2013; 190(9):4899-4909) и, в более ограниченной степени, больных раком пациентов-людей (Goding S R, et al., *J. Immunol.* 2013; 190(9):4899-4909, Matsuzaki J, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA.* 2010; 107:7875-7880 и Gandhi M K, et al., *Blood.* 2006; 108:2280-2289) поддерживают модель, в которой Т-клетки, которые постоянно подвергаются воздействию антигена, постепенно инактивируются посредством процесса, называемого «истощение». Истощенные Т-клетки характеризуются экспрессией отрицательных регуляторных рецепторов Т-клеток, преимущественно Цитотоксического Т-Лимфоцитарного Антигена-4 (CTLA-4), Запрограммированной Гибели Клеток 1 (PD-1) и LAG-3, действие которых заключается в ограничении способности клеток пролиферировать, продуцировать цитокины и убивать клетки-мишени и/или увеличивать активность Treg. Однако сроки и последовательность экспрессии этих молекул в развитии и рецидиве опухолей не были полностью охарактеризованы.

PD-1 является сигнальным рецептором клеточной поверхности, который играет критическую роль в регуляции активации и толерантности Т-клеток (Keir M E, et al., *Annu Rev Immunol* 2008; 26:677-704). Это трансмембранный белок типа I и вместе с BTLA, CTLA-4, ICOS и CD28 составляет семейство CD28 костимулирующих рецепторов Т-клеток. PD-1 преимущественно экспрессируется на активированных Т-клетках, В-

клетках и миелоидных клетках (Dong H, et al., Nat Med. 1999; 5:1365-1369). Он также экспрессируется на естественных клетках-киллерах (NK) (Terme M, et al., Cancer Res 2011; 71:5393-5399). Связывание PD-1 его лигандами, PD-L1 и PD-L2, приводит к фосфорилированию остатка тирозина в проксимальном внутриклеточном иммунном рецепторном домене, ингибирующем тирозин, с последующим рекрутированием фосфатазы SHP-2, что в конечном итоге приводит к понижающей регуляции активации Т-клеток. Одна важная роль PD-1 заключается в ограничении активности Т-клеток в периферических тканях во время воспалительного ответа на инфекцию, таким образом ограничивая развитие аутоиммунитета (Pardoll D M., Nat Rev Cancer 2012; 12:252-264). Доказательства этой отрицательной регуляторной роли получены из обнаружения того, что у мышей с дефицитом PD-1 развиваются подобные волчанке аутоиммунные заболевания, включая артрит и нефрит, наряду с кардиомиопатией (Nishimura H, et al., Immunity, 1999; 11:141-151; and Nishimura H, et al., Science, 2001; 291:319-322). В опухолевой среде следствием является развитие иммунной резистентности в микроокружении опухоли. PD-1 высоко экспрессируется в инфильтрирующих опухоль лимфоцитах, и его лиганды активируются на клеточной поверхности многих различных опухолей (Dong H, et al., Nat Med 2002; 8:793-800). Модели мыши с множественным раком продемонстрировали, что связывание лиганда с PD-1 приводит к уклонению от распознавания иммунной системой. Кроме того, блокада этого взаимодействия приводит к противоопухолевой активности (Topalian S L, et al. NEJM 2012; 366(26):2443-2454; Hamid O, et al., NEJM 2013; 369:134-144). Кроме того, было показано, что ингибирование взаимодействия PD-1/PD-L1 опосредует сильную противоопухолевую активность в доклинических моделях (Пат. США No. 8,008,449 и 7,943,743).

Недавно несколько ингибиторов контрольных точек иммунного ответа начали предоставлять новые иммунотерапевтические подходы для лечения рака, включая разработку антитела (Ab), ипилимумаба (YERVOY®), которое связывается с Цитотоксическим Т-Лимфоцитарным Антигеном-4 (CTLA-4) и ингибирует его для лечения пациентов с распространенной меланомой, разработку антител, таких как ниволумаб и пембролизумаб (ранее ламбролизумаб; USAN Council Statement (2013) Пембролизумаб: Заявление о непатентованном наименовании, принятое USAN Council (ZZ-165) 27 ноября, 2013), которые специфически связываются с рецептором Запрограммированной Смерти-1 (PD-1) и блокируют ингибирующий путь лиганда PD-1/PD-1, и разработку антитела BMS-986016 (как описано в Патенте США No. 9,505,839), которое специфически связывается с LAG-3 и способно стимулировать иммунные ответы.

Перспектива новой области персонализированной медицины заключается в том, что достижения в области фармакогеномики будут все чаще использоваться для адаптации терапевтических средств к определенным субпопуляциям и, в конечном счете, к отдельным пациентам с целью повышения эффективности и минимизации побочных эффектов. Недавние успехи включают, например, разработку мезилата иматиниба (GLEEVEC®), ингибитора протеинтирозинкиназы, который ингибирует тирозинкиназу bcr-abl, для лечения хронического миелогенного лейкоза, положительного по филадельфийской хромосоме (CML); кризотиниба (XALKORI®) для лечения 5% пациентов с немелкоклеточным раком легких поздней стадии, которые экспрессируют мутантный ген киназы анапластической лимфомы (ALK); и вемурафениба (ZELBORAF®), ингибитора мутированного белка B-RAF (V600E- BRAF), который экспрессируется в примерно половине опухолей меланомы. Однако, в отличие от клинической разработки низкомолекулярных агентов, которые нацелены на дискретные активирующие мутации, обнаруженные в отдельных популяциях рака, особой проблемой в иммунотерапии рака была идентификация прогностических биомаркеров, позволяющих осуществлять отбор пациентов и направлять лечение. Таким образом, целью настоящего изобретения является создание улучшенных способов лечения опухолей.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В одном аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу выбора злокачественной опухоли у пациента-человека для лечения с помощью ингибитора пути PD-1, ингибитора LAG-3, комбинации ингибитора пути PD1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа или комбинации ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает обнаружение экспрессии LAG-3 в опухоли. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает обнаружение экспрессии LAG-3 и экспрессии PD-L1 в опухоли. В настоящем документе также раскрыты способы лечения положительных по LAG-3 опухолей у человека, включающие введение ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1.

В одном аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу выбора злокачественной опухоли у пациента-человека для иммунотерапии, включающему: определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и выбор опухоли для иммунотерапии, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится

к способу идентификации злокачественной опухоли у пациента-человека, подходящей для иммунотерапии, включающему: определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и определение опухоли как подходящей для иммунотерапии, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу идентификации злокачественной опухоли у пациента-человека, который может быть чувствительным к иммунотерапии, включающему: определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и идентификацию опухоли как вероятно чувствительной к лечению, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу классификации злокачественной опухоли у пациента-человека, которая может быть чувствительной к иммунотерапии, включающему: определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и классификацию опухоли как вероятно чувствительной к иммунотерапии, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, дополнительно включает определение уровня экспрессии PD-L1 в образце опухоли. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа.

В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа.

В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу идентификации пациента со злокачественной опухолью, который может отвечать на иммунотерапию, включающему: определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и выявление пациента, который может отвечать на лечение, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу выбора пациента со злокачественной опухолью для иммунотерапии, включающему: определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и выбор пациента для иммунотерапии, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, дополнительно включает определение уровня экспрессии PD-L1 в образце опухоли. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа.

В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, включающему: введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1; где предсказано, что пациент отвечает на лечение ингибитором

LAG-3 и ингибитором пути PD-1 на основании экспрессии LAG-3 в образце опухоли пациента. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, включающему: введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3; где предсказано, что пациент отвечает на лечение ингибитором LAG-3 на основании экспрессии LAG-3 в образце опухоли пациента. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, включающему: введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1; где предсказано, что пациент отвечает на лечение ингибитором пути PD-1 на основании экспрессии LAG-3 в образце опухоли пациента. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, включающему: введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа; где предсказано, что пациент отвечает на лечение ингибитором пути PD-1 и ингибитором контрольных точек иммунного ответа на основании экспрессии LAG-3 в образце опухоли пациента. В некоторых вариантах выполнения изобретения предсказывают, что пациент отвечает на лечение на основе экспрессии LAG-3 и PD-L1 в образце опухоли пациента.

В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающему: определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающему: определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу лечения злокачественной опухоли у нуждающегося в этом человека, включающему: определение уровня экспрессии LAG-3

в образце опухоли; и введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, дополнительно включает определение уровня экспрессии PD-L1 в образце опухоли.

В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, где пациент идентифицирован как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу лечения злокачественной опухоли у человека, нуждающегося в этом, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу лечения злокачественной опухоли у пациента, нуждающегося в этом, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением.

В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающему: идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль; и введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу лечения злокачественной

опухоли у человека, нуждающегося в этом, включающему: идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль; и введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу лечения злокачественной опухоли у человека, нуждающегося в этом, включающему: идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль; и введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу лечения злокачественной опухоли у человека, нуждающегося в этом, включающему: идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль; и введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, дополнительно включает идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, дополнительно включает идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль.

В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу продления периода выживаемости без прогрессирования на более чем 12 месяцев пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающему введение пациенту ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением, и где пациент демонстрирует выживаемость без прогрессирования в течение более чем 12 месяцев. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу продления периода выживаемости без прогрессирования на более чем 12 месяцев пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающему введение пациенту ингибитора LAG-3, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением, где пациент демонстрирует выживаемость без прогрессирования в течение более чем 12 месяцев. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу продления периода выживаемости без прогрессирования на более чем 12 месяцев пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающему введение пациенту ингибитора пути PD-1, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3

злокачественную опухоль перед введением, и где пациент демонстрирует выживаемость без прогрессирования в течение более чем 12 месяцев. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу продления периода выживаемости без прогрессирования на более чем 12 месяцев пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающему введение пациенту ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением, и где пациент демонстрирует выживаемость без прогрессирования в течение более чем 12 месяцев. В некоторых вариантах выполнения изобретения пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения выживаемость без прогрессирования пациента продляется после введения на более чем около 13 месяцев, около 14 месяцев, около 15 месяцев, около 16 месяцев, около 17 месяцев, около 18 месяцев, около 2 лет, около 3 лет, около 4 лет, около 5 лет, около 6 лет, около 7 лет, около 8 лет, около 9 лет или около 10 лет. В некоторых вариантах выполнения изобретения выживаемость без прогрессирования пациента продляется на более чем 14 месяцев.

В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу уменьшения размера опухоли по меньшей мере на 10% у пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением, и где введение уменьшает размер опухоли по меньшей мере на около 10%, на около 20%, на около 30%, на около 40%, на около 50%, на около 60%, на около 70%, на около 80%, на около 90% или 100% по сравнению с размером опухоли перед введением. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу уменьшения размера опухоли по меньшей мере на 10% у пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где введение уменьшает размер опухоли по меньшей мере на около 10%, на около 20%, на около 30%, на около 40%, на около 50%, на около 60%, на около 70%, на около 80%, на около 90% или 100% по сравнению с размером опухоли перед введением. В другом

аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу уменьшения размера опухоли по меньшей мере на 10% у пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где введение уменьшает размер опухоли по меньшей мере на около 10%, на около 20%, на около 30%, на около 40%, на около 50%, на около 60%, на около 70%, на около 80%, на около 90% или 100% по сравнению с размером опухоли перед введением. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу уменьшения размера опухоли по меньшей мере на 10% у пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением, и где введение уменьшает размер опухоли по меньшей мере на около 10%, на около 20%, на около 30%, на около 40%, на около 50%, на около 60%, на около 70%, на около 80%, на около 90% или 100% по сравнению с размером опухоли перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, дополнительно включает идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, дополнительно включает идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, дополнительно включает идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения пациент испытывает (i) продленную выживаемость без прогрессирования на более чем 12 месяцев, (ii) уменьшение размера опухоли по меньшей мере на около 10%, на около 20%, на около 30%, на около 40% или на около 50% по сравнению с размером опухоли перед введением или (iii) оба.

В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу увеличения объективного ответа на лечение рака до выше чем 50% в популяции пациентов-людей, где каждый имеет злокачественную опухоль, на лечение рака, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением, и где показатель объективного ответа выше чем 55%, 60%, 65%, 70% или 75%. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу увеличения объективного ответа на лечение рака до выше чем 50% в популяции пациентов-людей, где каждый имеет злокачественную опухоль, на лечение рака, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением, и где показатель объективного ответа выше чем 55%, 60%, 65%, 70% или 75%. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу увеличения объективного ответа на лечение рака до выше чем 50% в популяции пациентов-людей, где каждый имеет злокачественную опухоль, на лечение рака, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением, и где показатель объективного ответа выше чем 55%, 60%, 65%, 70% или 75%. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу увеличения объективного ответа на лечение рака до выше чем 50% в популяции пациентов-людей, где каждый имеет злокачественную опухоль, на лечение рака, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением, и где показатель объективного ответа выше чем 55%, 60%, 65%, 70% или 75%. В некоторых вариантах выполнения изобретения каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением.

В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу повышения уровня контроля заболевания до выше чем 50% в популяции пациентов-людей, где каждый имеет злокачественную опухоль, лечения рака,

включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением, и где показатель объективного ответа выше чем 55%, 60%, 65%, 70% или 75%. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу повышения уровня контроля заболевания до более чем 50% в популяции пациентов-людей, где каждый имеет злокачественную опухоль, лечения рака, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением, и где показатель объективного ответа выше чем 55%, 60%, 65%, 70% или 75%. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу повышения уровня контроля заболевания до более чем 50% в популяции пациентов-людей, где каждый имеет злокачественную опухоль, лечения рака, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением, и где показатель объективного ответа выше чем 55%, 60%, 65%, 70% или 75%. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу повышения уровня контроля заболевания до более чем 50% в популяции пациентов-людей, где каждый имеет злокачественную опухоль, лечения рака, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением, и где показатель объективного ответа выше чем 55%, 60%, 65%, 70% или 75%. В некоторых вариантах выполнения изобретения каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения средняя продолжительность ответа составляет ≥ 3 месяцев, ≥ 6 месяцев, ≥ 12 месяцев или ≥ 18 месяцев.

В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, дополнительно включает идентификацию каждого пациента из популяции пациентов как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в

настоящем документе, дополнительно включает идентификацию каждого пациента из популяции пациентов как имеющего положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, дополнительно включает идентификацию каждого пациента из популяции пациентов как имеющего положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения каждый пациент из популяции пациентов дополнительно характеризуется (i) продленной выживаемостью без прогрессирования на более чем 12 месяцев, (ii) уменьшением размера опухоли по меньшей мере на около 10%, на около 20%, на около 30%, на около 40% или на около 50% по сравнению с размером опухоли перед введением или (iii) оба. В некоторых вариантах выполнения изобретения популяция пациентов включает по меньшей мере около 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 или 1000 пациентов, имеющих положительную по LAG-3 злокачественную опухоль.

В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу выбора пациента-человека, подходящего для комбинированной терапии, включающему: идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль; и инструктаж медицинского работника о введении пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу выбора пациента-человека, подходящего для комбинированной терапии, включающему: идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль; и инструктаж медицинского работника о введении пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу выбора пациента-человека, подходящего для комбинированной терапии, включающему: идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль; и инструктаж медицинского работника о введении пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу выбора пациента-человека, подходящего для комбинированной терапии, включающему: идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль; и инструктаж медицинского работника о введении пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, дополнительно включает идентификацию

пациента как имеющего положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, дополнительно включает идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения введение лечит злокачественную опухоль.

В некоторых вариантах выполнения изобретения идентификация пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль включает определение экспрессии LAG-3 в злокачественной опухоли. В некоторых вариантах выполнения изобретения идентификация пациента как имеющего положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль включает определение экспрессии PD-L1 в злокачественной опухоли. В некоторых вариантах выполнения изобретения идентификация пациента как имеющего положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль включает определение экспрессии PD-L1 в злокачественной опухоли. В некоторых вариантах выполнения изобретения экспрессия LAG-3 определяется путем изучения результатов анализа, способного определить экспрессию LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения экспрессия LAG-3 определяется путем изучения результатов иммуногистохимического анализа, способного определить экспрессию LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения экспрессия PD-L1 определяется путем изучения результатов анализа, способного определить экспрессию PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения экспрессия PD-L1 определяется путем изучения результатов иммуногистохимического анализа, способного определить экспрессию PD-L1.

В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 опухоль содержит по меньшей мере около 1%, по меньшей мере около 2%, по меньшей мере около 3%, по меньшей мере около 4%, по меньшей мере около 5%, по меньшей мере около 7%, по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90% или 100% клеток, экспрессирующих LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 опухоль содержит по меньшей мере около 1% клеток, экспрессирующих LAG-3. В определенных вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 опухоль содержит по меньшей мере около 5% клеток, экспрессирующих LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения клетки,

экспрессирующие LAG-3, содержат инфильтрирующие опухоль лимфоциты. В определенных вариантах выполнения изобретения клетки, экспрессирующие LAG-3, представляют собой общее количество клеток. В других вариантах выполнения изобретения клетки экспрессируют LAG-3 на поверхности клетки.

В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль выбрана из группы, состоящей из рака печени, рака кости, рака поджелудочной железы, рака кожи, рака полости рта, рака головы или шеи, рака молочной железы, рака легких, включая мелкоклеточный и немелкоклеточный клеточный рак легких, кожной или внутриглазной злокачественной меланомы, рака почки, рака матки, рака яичников, колоректального рака, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака анальной области, рака желудка, рака яичка, рака матки, рака маточных труб, карциномы эндометрия, карциномы шейки матки, карциномы влагалища, карциномы вульвы, неходжкинской лимфомы, рака пищевода, рака тонкой кишки, рака эндокринной системы, рака щитовидной железы, рака околощитовидной железы, рака надпочечников, саркомы мягких тканей, рака мочеиспускательного канала, рака полового члена, рака детского возраста, лимфоцитарной лимфомы, рака мочевого пузыря, рака почки или мочеточника, карциномы почечной лоханки, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), первичной лимфомы ЦНС, ангиогенеза опухоли, опухоли оси позвоночника, глиомы ствола головного мозга, аденомы гипофиза, саркомы Капоши, эпидермоидного рака, плоскоклеточного рака, рака, вызванного окружающей средой, в том числе индуцированного асбестом рака, гематологических злокачественных новообразований, включая, например, множественную миелому, В-клеточную лимфому, лимфому Ходжкина/первичные средостенные В-клеточные лимфомы, неходжкинские лимфомы, острую миелоидную лимфому, хроническую миелогенный лейкоз, хронический лимфоидный лимфолейкоз, фолликулярный лейкоз, диффузный В-клеточный лейкоз, лимфому Беркитта, иммунобластический крупноклеточный лейкоз, предшественник В-лимфобластного лейкоза, лимфому мантийных клеток, острый лимфобластный лейкоз, фунгоидный микоз, анапластическую крупноклеточную лимфому, Т-клеточную лимфому и предшественник В-лимфобластного лейкоза и их комбинацию.

В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль выбрана из меланомы, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), опухоли, связанной с вирусом папилломы человека (HPV), и аденокарциномы желудка.

В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой NSCLC, опухоль, связанную с раком вирусного происхождения, или аденокарциному желудка.

В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой меланому, рак желудка, рак гастроэзофагеального перехода, немелкоклеточный рак легкого, рак мочевого пузыря, плоскоклеточную карциному головы и шеи или почечно-клеточный рак.

В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой рак легкого, меланому, плоскоклеточную карциному головы и шеи, рак почки, рак желудка или гепатоцеллюлярную карциному.

В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 злокачественная опухоль представляет собой опухоль меланомы, содержащую около 1% или более клеток, экспрессирующих LAG-3.

В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 злокачественная опухоль представляет собой опухоль рака желудка, содержащую около 1% или более клеток, экспрессирующих LAG-3.

В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль является невосприимчивой к лечению ингибитором контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль не поддается лечению антителом против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль является невосприимчивой к лечению антителом против PD-L1.

В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу лечения меланомы у пациента-человека, включающему: идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 меланому; и введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения идентификация пациента как имеющего положительную по LAG-3 меланому включает определение экспрессии LAG-3 в опухоли меланомы. В некоторых вариантах выполнения изобретения экспрессия LAG-3 определяется изучением результатов анализа, способного определить экспрессию LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения экспрессию LAG-3 определяют с помощью иммуногистохимического анализа, способного определить экспрессию LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, дополнительно включает идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, дополнительно включает идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль.

В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу лечения меланомы у пациента, нуждающегося в этом, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 меланому перед введением. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу продления периода выживаемости без прогрессирования на более чем 12 месяцев у пациента-человека, имеющего меланому, включающему введение пациенту ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 меланому перед введением, и где пациент демонстрирует выживаемость без прогрессирования в течение более чем 12 месяцев. В некоторых вариантах выполнения изобретения пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 меланому перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 меланому перед введением.

В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу увеличения объективного показателя ответа на лечение рака до уровня, превышающего 15%, в популяции пациентов-людей, каждый из которых имеет меланому, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где показатель объективного ответа превышает 15%. В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способу повышения уровня показателя контроля заболевания к лечению рака до уровня, превышающего 70%, в популяции пациентов-людей, каждый из которых имеет меланому, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 меланому перед введением и где показатель объективного ответа превышает 70%. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, дополнительно включает идентификацию каждого пациента из популяции пациентов как имеющего положительную по LAG-3 меланому перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения средняя продолжительность ответа составляет ≥ 3 месяца, ≥ 6 месяцев, ≥ 12 месяцев или ≥ 18 месяцев. В некоторых вариантах выполнения изобретения каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 меланому перед введением. В

некоторых вариантах выполнения изобретения каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 меланому перед введением.

В некоторых вариантах выполнения изобретения меланома устойчива к лечению ингибитором контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения изобретения меланома устойчива к лечению антителом против PD-1 или антителом против PD-L1.

В некоторых вариантах выполнения изобретения определение уровня экспрессии LAG-3 и/или PD-L1 включает предоставление образца тестируемой ткани, полученного от пациента, причем образец тестируемой ткани содержит опухолевые клетки и/или инфильтрирующие опухоль иммунные клетки. В некоторых вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани представляет собой биопсию опухоли. В некоторых вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани представляет собой зафиксированный формалином и погруженный в парафин (FFPE) образец.

В некоторых вариантах выполнения изобретения определение включает обнаружение экспрессии белка LAG-3 и/или PD-L1 или экспрессии РНК в образце тестируемой ткани.

В некоторых вариантах выполнения изобретения экспрессия LAG-3 и/или PD-L1 обнаруживается с помощью анализа, способного определять уровень белка LAG-3 и/или PD-L1 соответственно в образце исследуемой ткани.

В некоторых вариантах выполнения изобретения экспрессия LAG-3 и/или PD-L1 обнаруживается с помощью иммуногистохимического анализа. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ представляет собой моноплексный анализ (анализ, предназначенный для обнаружения/измерения присутствия одного анализируемого вещества, напр., пары антиген/антитело). В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ представляет собой мультиплексный анализ (анализ, предназначенный для обнаружения/измерения нескольких анализируемых веществ либо одновременно, либо последовательно). В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ включает контактирование образца опухоли с 17B4, SP346, 11E3, 874501 или EPR4392(2) против человеческого моноклонального антитела LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ включает контактирование образца опухоли с антителом против LAG-3, содержащим переменные области тяжелой и легкой цепи, содержащие последовательности, приведенные в SEQ ID NO:3 и 5 соответственно.

В некоторых вариантах выполнения изобретения в иммуногистохимическом анализе используется черный или коричневый хромоген. В некоторых вариантах выполнения изобретения в иммуногистохимическом анализе используется красный хромоген. В некоторых вариантах выполнения изобретения в иммуногистохимическом анализе используется синий хромоген. В некоторых вариантах выполнения изобретения в иммуногистохимическом анализе используется зеленый хромоген. В некоторых вариантах выполнения изобретения в иммуногистохимическом анализе используется пурпурный хромоген. В некоторых вариантах выполнения изобретения в иммуногистохимическом анализе используется желтый хромоген.

В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ оценивают при небольшом увеличении (напр., 4X или 10X). В некоторых вариантах выполнения изобретения небольшое увеличение составляет около 20X.

В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ оценивают при высоком увеличении. В некоторых вариантах выполнения изобретения высокое увеличение составляет около 40X или более (60X, 100X).

В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ оценивают с помощью программного обеспечения для анализа изображений. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ оценивается вручную патологом.

В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3, и/или оценку доли клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли опухолевых клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3, и/или оценку доли опухолевых клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли иммунных клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3, и/или оценку доли иммунных клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3, и/или оценку доли Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли CD8⁺ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3, и/или

оценку доли CD8+ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли CD4+ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3, и/или оценку доли CD4+ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли FOXP3+ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3, и/или оценку доли FOXP3+ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют PD-L1.

В некоторых вариантах выполнения изобретения клетки с частичной мембранной/цитоплазматической локализацией LAG-3 оценивают как клетки, экспрессирующие LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения клетки с точечной локализацией LAG-3 оценивают как клетки, экспрессирующие LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения клетки с полной мембранной/цитоплазматической локализацией LAG-3 оценивают как клетки, экспрессирующие LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения клетки с любым паттерном локализации LAG-3 оценивают как клетки, экспрессирующие LAG-3.

В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ представляет собой мультиплексный анализ, который дополнительно включает обнаружение экспрессии МНС Класса II опухолевыми клетками. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют МНС Класса II. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли неиммунных клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют МНС II.

В некоторых вариантах выполнения изобретения экспрессия белка LAG-3 и/или PD-L1 обнаруживается с помощью проточной цитометрии. В некоторых вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани, полученный от пациента, содержит инфильтрирующие опухоль иммунные клетки. В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой гематологическое злокачественное образование, и образец ткани содержит циркулирующие лимфоциты. В некоторых вариантах выполнения изобретения проточная цитометрия представляет собой мультиплексный анализ. В некоторых вариантах выполнения изобретения проточная цитометрия включает обнаружение экспрессии маркеров, включающих LAG-3, PD-L1, CD4, CD8, FOXP3, МНС Класса II и любую их комбинацию.

В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка проточной цитометрии включает оценку доли Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка проточной цитометрии включает оценку доли CD8+ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка проточной цитометрии включает оценку доли CD4+ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка проточной цитометрии включает оценку доли FOXP3+ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3.

В некоторых вариантах выполнения изобретения экспрессия LAG-3 и/или PD-L1 обнаруживается анализом, способным определять уровень РНК LAG-3 и/или PD-L1, соответственно, в образце опухоли. В некоторых вариантах выполнения изобретения экспрессия LAG-3 и/или PD-L1 обнаруживается с помощью анализа на основе RT-PCR. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка на основе анализа RT-PCR включает оценку уровня экспрессии РНК LAG-3 и/или PD-L1 в образце тестируемой ткани относительно предварительно определенного уровня.

В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3 представляет собой биспецифическое антитело.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит (а) вариабельную область CDR1 тяжелой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:7; (b) вариабельную область CDR2 тяжелой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:8; (с) вариабельную область CDR3 тяжелой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:9; (d) вариабельную область CDR1 легкой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:10; (е) вариабельную область CDR2 легкой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:11; и (f) вариабельную область CDR3 легкой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:12.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельные области тяжелой и легкой цепи, содержащие последовательности, приведенные в SEQ ID NO:3 и 5 соответственно.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3 представляет собой МК-4280 (28G-10), REGN3767, GSK2837781, IMP731 (H5L7BW),

BAP050, IMP-701 (LAG-525), IMP321, FS-118, Sym022, TSR-033, MGD013, FS118 или GSK2831781.

В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит (а) переменную область CDR1 тяжелой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:23; (b) переменную область CDR2 тяжелой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:24; (с) переменную область CDR3 тяжелой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:25; (d) переменную область CDR1 легкой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:26; (е) переменную область CDR2 легкой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:27; и (f) переменную область CDR3 легкой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:28.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменные области тяжелой и легкой цепи, содержащие последовательности, приведенные в SEQ ID NO:19 и 21 соответственно.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи, содержащие последовательности, приведенные в SEQ ID NO:17 и 18 соответственно.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб (KEYTRUDA; MK-3475), пидилизумаб (CT-011) или ниволумаб (OPDIVO; BMS-936558).

В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-L1 или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-L1 представляет собой атезолизумаб (Tecentriq или RG7446), дурвалумаб (Imfinzi или MEDI4736), авелумаб (Bavencio) или BMS-936559.

В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-L2 или его антигенсвязывающий фрагмент.

В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист CTLA-4, антагонист CD80, антагонист CD86, антагонист Tim-3, антагонист TIGIT, антагонист CD20, антагонист CD96, антагонист IDO1, антагонист STING, антагонист STING, антагонист GARP, антагонист

CD40, антагонист A2aR, антагонист CEACAM1 (CD66a), антагонист CEA, антагонист CD47, антагонист PVRIG, антагонист TDO, антагонист VISTA или антагонист KIR.

В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает по меньшей мере один цикл введения, где цикл представляет собой период в восемь недель, причем для каждого из по меньшей мере одного цикла четыре дозы антитела против LAG-3 вводят в дозе 3, 20, 80, 160 или 240 мг.

В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает по меньшей мере один цикл введения, где цикл представляет собой период в восемь недель, причем для каждого из по меньшей мере одного цикла четыре дозы антитела против PD-1 вводят в дозе 80 или 240 мг.

В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает по меньшей мере один цикл введения, где цикл представляет собой период в восемь недель, причем для каждого из по меньшей мере одного цикла четыре дозы антитела против PD-L1 вводят в дозе 3, 20, 80, 160 или 240 мг.

В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает по меньшей мере один цикл введения, где цикл представляет собой период в восемь недель, причем для каждого из по меньшей мере одного цикла четыре дозы антитела против LAG-3 вводят в дозе 3, 20, 80, 160 или 240 мг и четыре дозы антитела против PD-1 вводят в дозе 80 или 240 мг.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в следующих дозах: (a) 3 мг антитела против LAG-3 и 80 мг антитела против PD-1; (b) 3 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1; (c) 20 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1; (d) 80 мг антитела против LAG-3 и 160 мг антитела против PD-1; (e) 80 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1; (f) 160 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1 или (g) 240 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в дозе 80 мг антитела против LAG-3 и 160 мг антитела против PD-1.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в дозе 80 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в дозе 160 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитела против PD-1 и против LAG-3 или их антигенсвязывающие фрагменты составлены для внутривенного введения.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитела против PD-1 и против LAG-3 или их антигенсвязывающие фрагменты составлены вместе. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитела против PD-1 и против LAG-3 или их антигенсвязывающие фрагменты составлены отдельно.

В некоторых вариантах выполнения изобретения лечение включает вплоть до 12 циклов.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в Дни 1, 15, 29 и 43 каждого цикла.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в Дни 1, 15, 29 и 43 каждого цикла.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят перед введением антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в течение около 30 минут перед введением антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят после введения антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят перед введением антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят одновременно с антителом против LAG-3 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающий фрагмент и ингибитор пути PD-1 вводят в качестве первой линии лечения. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающий фрагмент и ингибитор пути PD-1 вводят в качестве второй линии лечения.

В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, раскрытый в настоящем документе, дополнительно включает введение по меньшей мере одного дополнительного терапевтического агента. В некоторых вариантах выполнения изобретения по меньшей мере один дополнительный терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент. В некоторых вариантах выполнения

изобретения по меньшей мере один дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор контрольных точек иммунного ответа.

В некоторых вариантах выполнения изобретения способ приводит по меньшей мере к одному терапевтическому эффекту, выбранному из уменьшения размера опухоли, уменьшения количества метастатических поражений с течением времени, полного ответа, частичного ответа и стабильного заболевания.

В некоторых вариантах выполнения изобретения введение антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента и ингибитора пути PD-1 активирует Т-клетки пациента. В некоторых вариантах выполнения изобретения введение антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента и ингибитора пути PD-1 индуцирует маркеры активации экспрессии Т-клетками пациента.

В некоторых вариантах выполнения изобретения введение антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента приводит к заполненности по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95% или около 100% рецепторов LAG-3 на Т-клетках пациента. В некоторых вариантах выполнения изобретения Т-клетки представляют собой CD8⁺ Т-клетки. В некоторых вариантах выполнения изобретения Т-клетки представляют собой инфильтрирующие опухоль Т-клетки.

В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор пути PD-1 содержит антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент.

В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к набору для лечения пациента, имеющего злокачественную опухоль, который включает: дозировку в диапазоне от около 0,1 до около 10 мг/кг массы тела антитела против LAG-3 или его антиген-связывающего фрагмента; дозировку в диапазоне от около 0,1 до около 10 мг/кг массы тела антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента; и инструкции по применению антитела против LAG-3 и антитела против PD-1 или их антигенсвязывающих фрагментов в любом из способов, раскрытых в настоящем документе.

В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к набору для лечения пациента, имеющего злокачественную опухоль, который включает: дозировку в диапазоне от около 0,1 до около 10 мг/кг массы тела антитела против PD1 или его антигенсвязывающего фрагмента; дозировку ингибитора контрольных точек иммунного ответа; и инструкции по применению антитела против PD-1 или его

антигенсвязывающего фрагмента и ингибитора контрольных точек иммунного ответа в любом из способов, раскрытых в настоящем документе.

В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к набору для лечения пациента, имеющего злокачественную опухоль, который включает: дозировку в диапазоне от около 0,1 до около 10 мг/кг массы тела антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента; и инструкции по применению антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента в любом из способов, раскрытых в настоящем документе.

В другом аспекте изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к набору для лечения пациента, имеющего злокачественную опухоль, причем этот набор включает: дозировку в диапазоне от 0,1 до 10 мг/кг массы тела антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента; и инструкции по применению антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента в любом из способов, раскрытых в настоящем документе.

В другом аспекте изобретение относится к способу идентификации пациента, который не поддается лечению антагонистом PD-1, где способ включает определение уровня экспрессии LAG-3, где повышенный уровень экспрессии LAG-3 после лечения с помощью антагониста PD-1 относительно уровня экспрессии LAG-3 до лечения антагонистом PD-1 указывает на то, что пациент невосприимчив к терапии антагонистом PD-1. В другом аспекте изобретение относится к способу идентификации пациента, который подвергается риску стать невосприимчивым к лечению антагонистом PD-1, где способ включает определение уровня экспрессии LAG-3, где повышенный уровень экспрессии LAG-3 после лечения антагонистом PD-1 относительно уровня экспрессии LAG-3 до лечения антагонистом PD-1 указывает на то, что у пациента есть риск стать невосприимчивым к терапии антагонистом PD-1. В некоторых аспектах изобретение относится к способу идентификации пациента, который, скорее всего, отвечает на терапию LAG-3, где способ включает определение уровня экспрессии LAG-3 у пациента, где повышенный уровень экспрессии LAG-3 после лечения антагонистом PD-1 относительно уровня экспрессии LAG-3 до лечения антагонистом PD-1, указывает на то, что пациент, скорее всего, отвечает на терапию LAG-3. В определенных аспектах изобретение относится к способу выбора пациента для лечения с помощью терапии LAG-3, где способ включает определение уровня экспрессии LAG-3 у пациента, где повышенный уровень экспрессии LAG-3 после лечения с помощью антагониста PD-1 относительно уровня экспрессии LAG-3 до лечения антагонистом PD-1 указывает на то, что пациент, скорее всего, отвечает на терапию LAG-3. В одном варианте выполнения

изобретения антагонист PD-1 представляет собой ингибитор PD-1. В определенных вариантах выполнения изобретения антагонист PD-1 представляет собой антитело PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения терапия LAG-3 представляет собой ингибитор LAG-3. В конкретных вариантах выполнения изобретения терапия LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3. В одном варианте выполнения изобретения терапия LAG-3 представляет собой комбинированную терапию. В одном варианте выполнения изобретения комбинированная терапия LAG-3 представляет собой комбинацию антитела против LAG-3 и антитела против PD-1.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Фигура 1. Паттерны окрашивания, наблюдаемые в образцах иммуногистохимии (ИНС) моноплекса LAG-3.

Фигура 2. Распределение частоты клеток LAG-3+ по отношению ко всем опухолевым клеткам в образце, проанализированном с помощью ИНС моноплекса LAG-3.

Фигуры 3А-В. (Фигура 3А) Дизайн исследования и конечные точки. (Фигура 3В) Ключевые критерии включения для пациентов в расширенной когорте меланомы с предшествующей ИО.

Фигура 4. Исходная демография и характеристики заболевания.

Фигура 5. Предшествующая терапия.

Фигура 6. Статус экспрессии LAG-3 первых 40 испытанных ИО меланом.

Фигура 7. Ответ по оценке исследователя пациентов с меланомой, которые прогрессировали на предшествующей терапии против PD1/PD-L1.

Фигура 8. Экспрессия LAG-3 обогащает ответ.

Фигура 9. Глубина и продолжительность ответа по экспрессии LAG-3.

Фигура 10. Продолжительность выживаемости без прогрессирования.

Фигура 11. Ответ по исходным характеристикам (по оценке исследователя).

Фигура 12. Статус экспрессии LAG-3 в образцах опухолей желудка. 48% (10/21) образцов были оценены как положительные по LAG-3 с использованием порога 1% в моноплексном анализе ИНС.

Фигура 13. Изменение размера поражения мишени у пациентов с раком желудка в ответ на лечение комбинацией антител против LAG-3 и против PD-1. Положительные по LAG-3 опухоли были обогащены среди пациентов, которые были чувствительны к лечению. Ответ опухоли определяли по данным RECIST. Пациенты в этом исследовании ранее не подвергались лечению анти-PD-1/PD-L1.

Фигура 14. Статус экспрессии LAG-3 плоскоклеточного рака головы и шеи (SCCHN), почечной карциномы, гепатоцеллюлярной карциномы (HCC) и образцов опухолей NSCLC, определенный с помощью моноплексного анализа ИHC.

Фигура 15А и В. Фигура 15А. Пигментированные срезы меланомы. Ядра были окрашены гематоксилином с отбеливанием или без него. Фигура 15В. Пигментированная меланома LAG-3 ИHC с предварительным отбеливанием или без него. Ядра были окрашены гематоксилином.

Фигура 16. Обновленный дизайн исследования и конечные точки.

Фигура 17. Обновленная исходная демография и характеристики заболевания.

Фигура 18. Обновленные предшествующие терапии.

Фигура 19. Обновленная противоопухолевая активность комбинированной терапии BMS-986016 и Ниволумабом.

Фигура 20. Обновленный ответ по исходным характеристикам и экспрессии LAG-3.

Фигура 21. Обновленное наилучшее изменение целевого размера поражения по LAG-3 и экспрессии PD-L1.

Фигура 22. Обновленные глубина и продолжительность ответа по LAG-3 и экспрессии PD-L1.

Фигура 23. Обновленное текущее клиническое наблюдение.

Фигура 24. Роль LAG-3 и PD-1 в истощении Т-клеток и предполагаемое клиническое применение в сочетании с ниволумабом.

Фигура 25. Паттерны экспрессии LAG-3 по окрашиванию ИHC суммарных ядродержащих клеток в образце опухоли меланомы.

Фигуры 26А-Е. Ассоциация LAG-3 с иммунными и воспалительными биомаркерами: (А) LAG-3 vs CD8, (В) LAG-3 vs FOXP3, (С) LAG-3 vs CD163, (D) LAG-3 vs CD68, (Е) LAG-3 vs PD-L1, (F) LAG-3 vs MHC II.

Фигура 27. Соотношение положительных по LAG-3 инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL) в опухолях, содержащих <1% или ≤1% положительных по MHC II опухолевых клеток.

Фигуры 28А-С. Связь между кластерами воспаления и экспрессией биомаркеров при (А) раке уротелия, (В) NSCLC и (С) всех типах опухолей.

Фигуры 29А-С. Гетерогенная экспрессия опухолевых клеток MHC II и LAG-3 + TIL. (А) Количество LAG-3 + TIL в областях опухолевых клеток с высоким MHC II и низким MHC II при уротелиальной карциноме. (В-С) соотношение клеток LAG-3 + TIL

в областях опухолевых клеток с высоким МНС II и низким МНС II в образцах уротелиальной карциномы и карциномы желудка.

Фигуры 30А и В. Уровни мРНК LAG-3 при скрининге и на 2–4 неделе монотерапии ниволумабом.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В одном аспекте настоящее изобретение относится к улучшенному способу лечения злокачественных опухолей у пациента-человека. В частности, настоящее изобретение показывает, что введение антитела против LAG-3 в комбинации с антителом против PD-1 приводит к неожиданно улучшенным результатам лечения в популяции пациентов, имеющих положительную по LAG-3 злокачественную опухоль, по сравнению с популяцией, включающей пациентов, имеющих как положительные по LAG-3, так и отрицательные по LAG-3 опухоли. Соответственно, в одном аспекте изобретение, описанное в настоящем документе, относится к способу идентификации патентов, имеющих положительную по LAG-3 опухоль, напр., меланому. В другом аспекте изобретение, описанное в настоящем документе, относится к способу лечения положительной по LAG-3 злокачественной опухоли путем введения комбинации ингибитора LAG-3 (напр., антитела против LAG-3) и ингибитора пути PD-1 (напр., антитела против PD-1).

В другом аспекте изобретение, описанное в настоящем документе, относится к способу лечения положительной по LAG-3 злокачественной опухоли путем введения ингибитора пути PD-1 (напр., антитела против PD-1) или комбинации ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа.

В другом аспекте изобретение, описанное в настоящем документе, относится к способу лечения положительной по LAG-3 злокачественной опухоли путем введения антитела против CTLA4.

1. Определения

Для того чтобы настоящее раскрытие могло быть более легко понято, сначала дается определение некоторым терминам. Как используется в настоящей заявке, если иное прямо не предусмотрено в настоящем документе, каждый из следующих терминов имеет значение, изложенное ниже. Дополнительные определения изложены по тексту заявки.

«Антитело» (Ab) должно включать, без ограничения, гликопротеиновый иммуноглобулин, который специфически связывается с антигеном и содержит по меньшей мере две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, связанные между собой

дисульфидными связями, или его антигенсвязывающую часть. Каждая цепь H содержит переменную область тяжелой цепи (сокращенно обозначенную в настоящем документе как V_H) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи включает три константных домена, C_{H1} , C_{H2} и C_{H3} . Каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (сокращенно обозначенную в настоящем документе как V_L) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один константный домен C_L . Области V_H и V_L могут быть далее подразделены на области гипервариабельности, называемые областями, определяющими комплементарность (CDR), чередующиеся с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). Каждая V_H и V_L содержит три CDR и четыре FR, расположенные от amino-конца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Вариабельные области тяжелой и легкой цепей содержат домен связывания, который взаимодействует с антигеном. Константные области антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, включая различные клетки иммунной системы (напр., эффекторные клетки) и первый компонент (C1q) классической системы комплемента. Тяжелая цепь может иметь или не иметь C-концевой лизин. Если в настоящем документе не указано иное, аминокислоты в переменных областях пронумерованы с использованием системы нумерации Kabat, а аминокислоты в константных областях пронумерованы с использованием системы EU.

Иммуноглобулин может происходить из любого широко известного изоформа, включая, но без ограничения, IgA, секреторный IgA, IgG и IgM. Подклассы IgG также хорошо известны специалистам в данной области и включают, но без ограничения, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 человека. «Изоформ» относится к классу или подклассу антител (напр., IgM или IgG1), которые кодируются генами константной области тяжелой цепи. Термин «антитело» включает, например, моноклональные и поликлональные антитела; химерные и гуманизированные антитела; антитела человека или не человека; полностью синтетические антитела; и одноцепочечные антитела. Нечеловеческое антитело может быть гуманизировано рекомбинантными способами для снижения его иммуногенности у человека. Если это прямо не указано и если контекст не указывает иное, термин «антитело» включает моноспецифические, биспецифические или мультиспецифические антитела, а также одноцепочечное антитело. В вариантах выполнения изобретения антитело представляет собой биспецифическое антитело. В других вариантах выполнения изобретения антитело представляет собой моноспецифическое антитело.

Используемый в настоящем документе термин «антитело IgG» имеет структуру встречающегося в природе антитела IgG, т.е. оно имеет такое же количество тяжелых и

легких цепей и дисульфидных связей, что и встречающееся в природе антитело IgG того же подкласса. Например, антитело против ICOS IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 состоит из двух тяжелых цепей (HC) и двух легких цепей (LC), где две тяжелые цепи и легкие цепи связаны одинаковым числом и расположением дисульфидных мостиков, которые встречаются в природных антителах IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 соответственно (если антитело не было мутировано для модификации дисульфидных связей).

«Выделенное антитело» относится к антителу, которое по существу не содержит других антител, обладающих различной антигенной специфичностью (напр., выделенное антитело, которое специфически связывается с PD-1, по существу не содержит антител, которые специфически связываются с антигенами, отличными от PD-1). Однако выделенное антитело, которое специфически связывается с PD-1, может иметь перекрестную реактивность с другими антигенами, такими как молекулы PD-1 из разных видов. Кроме того, выделенное антитело может быть практически свободным от других клеточных материалов и/или химических веществ.

Антитело может представлять собой антитело, которое было изменено (напр., путем мутации, делеции, замены, конъюгации с фрагментом, не являющимся антителом). Например, антитело может включать один или несколько вариантов аминокислот (по сравнению с встречающимся в природе антителом), которые изменяют свойство (напр., функциональное свойство) антитела. Например, в данной области техники известно множество таких изменений, которые влияют, напр., на период полужизни, эффекторную функцию и/или иммунные ответы на антитело у пациента. Термин антитело также включает искусственные полипептидные конструкции, которые содержат по меньшей мере один антигенсвязывающий сайт, полученный из антитела.

Термин «моноклональное антитело» («mAb») относится к не встречающемуся в природе препарату молекул антитела с одним молекулярным составом, т.е. к молекулам антител, первичные последовательности которых по существу идентичны, и которые проявляют одну специфичность связывания и аффинность в отношении конкретного эпитопа. MAb является примером выделенного антитела. MAb могут быть получены гибридомными, рекомбинантными, трансгенными или другими способами, известными специалистам в данной области.

Антитело «человека» (HuMAb) относится к антителу, имеющему переменные области, в которых как каркасные, так и области CDR получены из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека. Кроме того, если антитело содержит константную область, константная область также получена из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека. Антитела человека по изобретению

могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина зародышевой линии человека (напр., мутации, введенные случайным или сайт-специфическим мутагенезом *in vitro* или путем соматической мутации *in vivo*). Тем не менее, термин «антитело человека», используемый в настоящем документе, не включает антитела, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии других видов млекопитающих, таких как мышь, были привиты на каркасные последовательности человека. Термины «человеческие» антитела и «полностью человеческие» антитела используются как синонимы.

«Гуманизированное антитело» относится к антителу, в котором некоторые, большинство или все аминокислоты вне доменов CDR антитела, не принадлежащего человеку, заменены соответствующими аминокислотами, полученными из иммуноглобулинов человека. В одном варианте выполнения изобретения в гуманизированной форме антитела некоторые, большинство или все аминокислоты вне доменов CDR были заменены аминокислотами из иммуноглобулинов человека, тогда как некоторые, большинство или все аминокислоты в одной или нескольких областях CDR являются неизмененными. Небольшие добавления, делеции, вставки, замены или модификации аминокислот допустимы, если они не отменяют способность антитела связываться с конкретным антигеном. «Гуманизированное» антитело сохраняет антигенную специфичность, сходную со специфичностью исходного антитела.

«Химерное антитело» относится к антителу, в котором переменные области получены из одного вида, а константные области получены из другого вида, такому как антитело, в котором переменные области получены из мышиногo антитела, а константные области получены от человеческого антитела.

Антитело «против антигена» относится к антителу, которое специфически связывается с антигеном. Например, антитело против PD-1 специфически связывается с PD-1, а антитело против LAG-3 специфически связывается с LAG-3.

«Антигенсвязывающая часть» антитела (также называемая «антигенсвязывающим фрагментом») относится к одному или нескольким фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном, связанным целым антителом. Было показано, что антиген-связывающая функция антитела может осуществляться фрагментами полноразмерного антитела. Примеры связывающих фрагментов, охватываемых термином «антигенсвязывающая часть» или «антигенсвязывающий фрагмент» антитела, напр., антитела против LAG-3, описанного в настоящем документе, включают:

(1) фрагмент Fab (фрагмент от расщепления папаином) или аналогичный моновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, LC и CH1;

(2) фрагмент F(ab')₂ (фрагмент от расщепления пепсином) или аналогичный бивалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области;

(3) фрагмент Fd, состоящий из доменов VH и CH1;

(4) фрагмент Fv, состоящий из доменов VL и VH одного плеча антитела,

(5) фрагмент однодоменного антитела (dAb) (Ward et al., (1989) Nature 341:544-46), который состоит из домена VH;

(6) биоднодоменное антитело, которое состоит из двух доменов VH, связанных шарниром (переориентирующиеся антитела с двойной аффинностью (DART));

(7) иммуноглобулин с двумя переменными доменами;

(8) выделенная область, определяющая комплементарность (CDR); и

(9) комбинация двух или более выделенных CDR, которые могут быть необязательно соединены синтетическим линкером. Кроме того, хотя два домена фрагмента Fv, VL и VH, могут быть кодированы отдельными генами, они могут быть соединены с использованием рекомбинантных способов, с помощью синтетического линкера, который позволяет им быть выполненными в виде одной белковой цепи, в которой пара областей VL и VH образует одновалентные молекулы (известные как одноцепочечное Fv (scFv); см., например, Bird et al. (1988) Science 242:423-426; and Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883). Такие одноцепочечные антитела также предназначены для включения в термин «антигенсвязывающая часть» или «антигенсвязывающий фрагмент» антитела. Эти фрагменты антител получают с использованием общепринятых методик, известных специалистам в данной области, и фрагменты проверяют на пригодность таким же образом, как и интактные антитела. Антигенсвязывающие части могут быть получены с помощью методик рекомбинантной ДНК, или путем ферментативного или химического расщепления интактных иммуноглобулинов.

Термин «LAG-3», «LAG3» или «Ген-3 Активации Лимфоцитов» относится к Гену-3 Активации Лимфоцитов. Используемый в настоящем документе термин LAG-3 включает человеческий LAG-3 (hLAG-3), варианты, изоформы и видовые гомологи hLAG-3, а также аналоги, имеющие по меньшей мере один общий эпитоп с hLAG-3. Используемый в настоящем документе термин LAG-3 включает варианты, изоформы, гомологи, ортологи и паралоги. Например, антитела, специфичные к белку LAG-3 человека, могут, в некоторых случаях, перекрестно реагировать с белком LAG-3 из вида,

отличного от человека. В других вариантах выполнения изобретения антитела, специфичные к белку LAG-3 человека, могут быть полностью специфичными к белку LAG-3 человека и могут не проявлять видов или других типов перекрестной реактивности или могут перекрестно реагировать с LAG-3 от некоторых других видов, но не всех других видов (напр., перекрестно реагировать с LAG-3 обезьяны, но не с LAG-3 мыши). Термин «LAG-3 человека» относится к последовательности LAG-3 человека, такой как полная аминокислотная последовательность LAG-3 человека, имеющей Инвентарный номер GenBank NP_002277 (SEQ ID NO:13). Термин «LAG-3 мыши» относится к последовательности LAG-3 мыши, такой как полная аминокислотная последовательность LAG-3 мыши, имеющей Инвентарный номер GenBank NP_032505. LAG-3 также известен в данной области как, например, CD223. Последовательность LAG-3 человека может отличаться от LAG-3 человека по Инвентарному номеру GenBank NP_002277 наличием, например, консервативных мутаций или мутаций в неконсервативных областях, и LAG-3 обладает практически той же биологической функцией, что и LAG-3 человека по Инвентарному номеру GenBank NP_002277. Например, биологическая функция LAG-3 человека заключается в наличии эпитопа во внеклеточном домене LAG-3, который специфически связан с антителом по настоящему изобретению, или биологическая функция LAG-3 человека связывается с молекулами МНС Класа II.

Конкретная последовательность LAG-3 человека, как правило, будет по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности LAG-3 человека по Инвентарному номеру GenBank NP_002277 и содержит аминокислотные остатки, которые идентифицируют аминокислотную последовательность как человеческую по сравнению с аминокислотными последовательностями LAG-3 других видов (напр., мыши). В некоторых случаях LAG-3 человека может быть по меньшей мере на 95% или даже по меньшей мере на 96%, 97%, 98% или 99% идентичной аминокислотной последовательности LAG-3 по Инвентарному номеру GenBank NP_002277. В некоторых вариантах выполнения изобретения последовательность LAG-3 человека будет демонстрировать не более чем 10 аминокислотных отличий от последовательности LAG-3 по Инвентарному номеру GenBank NP_002277. В некоторых вариантах выполнения изобретения LAG-3 человека может демонстрировать не более чем 5 или даже не более чем 4, 3, 2 или 1 аминокислотного отличия от последовательности LAG-3 по Инвентарному номеру GenBank NP_002277. Процент идентичности может быть определен, как описано в настоящем документе.

Используемые в настоящем документе термины «Запрограммированная Смерть 1», «Запрограммированная Смерть 1 Клеток», «Белок PD-1», «PD-1», «PD1», «PDCD1», «hPD-1» и «hPD-I» используются взаимозаменяемо и включают варианты, изоформы, видовые гомологи PD-1 человека и аналоги, имеющие по меньшей мере один общий эпитоп с PD-1. Полная последовательность PD-1 может быть найдена по Инвентарному номеру GenBank U64863 (SEQ ID NO:29).

Белок Запрограммированной Смерти 1 (PD-1) является ингибирующим членом семейства рецепторов CD28, которое также включает CD28, CTLA-4, ICOS и BTLA. PD-1 экспрессируется на активированных В-клетках, Т-клетках и миелоидных клетках (Agata et al., supra; Okazaki et al. (2002) *Curr. Opin. Immunol.* 14: 391779-82; Bennett et al. (2003) *J Immunol* 170:711-8). Первые члены семейства, CD28 и ICOS, были обнаружены путем функционального воздействия на увеличение пролиферации Т-клеток после добавления моноклональных антител (Hutloff et al. *Nature* (1999); 397:263-266; Hansen et al. *Immunogenetics* (1980); 10:247-260). PD-1 был обнаружен путем скрининга дифференциальной экспрессии в апоптотических клетках (Ishida et al. *EMBO J* (1992); 11:3887-95). Другие члены семейства, CTLA-4 и BTLA, были обнаружены путем скрининга дифференциальной экспрессии в цитотоксических Т-лимфоцитах и TH1-клетках соответственно. CD28, ICOS и CTLA-4 имеют непарный остаток цистеина, что позволяет проводить гомодимеризацию. Напротив, предполагается, что PD-1 существует в виде мономера, в котором отсутствует неспаренный остаток цистеина, характерный для других членов семейства CD28.

Ген PD-1 представляет собой трансмембранный белок типа I 55 кДа, который является частью суперсемейства генов Ig (Agata et al. (1996) *Int Immunol* 8:765-72). PD-1 содержит мембранный проксимальный иммунорецепторный тирозиновый ингибиторный мотив (ITIM) и мембранный дистальный свич-мотив на основе тирозина (ITSM) (Thomas, M. L. (1995) *J Exp Med* 181:1953-6; Vivier, E and Daeron, M (1997) *Immunol Today* 18:286-91). Хотя он структурно сходен с CTLA-4, в PD-1 отсутствует мотив MYPPPY (SEQ ID NO:32), который является критическим для связывания B7-1 и B7-2. Были идентифицированы два лиганда для PD-1, PD-L1 и PD-L2, которые, как было показано, подавляют активацию Т-клеток при связывании с PD-1 (Freeman et al. (2000) *J Exp Med* 192:1027-34; Latchman et al. (2001) *Nat Immunol* 2:261-8; Carter et al. (2002) *Eur J Immunol* 32:634-43). И PD-L1, и PD-L2 являются гомологами B7, которые связываются с PD-1, но не связываются с другими членами семейства CD28. PD-L1 широко распространен в различных раковых опухолях человека (Dong et al. (2002) *Nat. Med.* 8:787-9). Взаимодействие между PD-1 и PD-L1 приводит к уменьшению количества

инфильтрирующих опухоль лимфоцитов, уменьшению пролиферации, опосредованной Т-клеточными рецепторами, и уклонению от распознавания иммунной системой со стороны раковых клеток (Dong et al. (2003) *J. Mol. Med.* 81:281-7; Blank et al. (2005) *Cancer Immunol. Immunother.* 54:307-314; Konishi et al. (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:5094-100). Подавление иммунитета можно обратить вспять путем ингибирования локального взаимодействия PD-1 с PD-L1, и этот эффект является аддитивным, когда взаимодействие PD-1 с PD-L2 также блокируется (Iwai et al. (2002) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 99:12293-7; Brown et al. (2003) *J. Immunol.* 170:1257-66).

Поскольку PD-1 является ингибирующим членом семейства CD28, у животных с дефицитом PD-1 развиваются различные аутоиммунные фенотипы, включая аутоиммунную кардиомиопатию и волчаноподобный синдром с артритом и нефритом (Nishimura et al. (1999) *Immunity* 11:141-51; Nishimura et al. (2001) *Science* 291:319-22). Кроме того, было обнаружено, что PD-1 играет роль в аутоиммунном энцефаломиелите, системной красной волчанке, болезни "трансплантат против хозяина" (GVHD), диабете I типа и ревматоидном артрите (Salama et al. (2003) *J Exp Med* 198:71-78; Prokunina and Alarcon-Riquelme (2004) *Hum Mol Genet* 13:R143; Nielsen et al. (2004) *Lupus* 13:510). Было показано, что в линии опухоли мышечных В-клеток ITSM PD-1 необходим для блокирования опосредованного BCR потока Ca²⁺ и фосфорилирования тирозина нижележащих эффекторных молекул (Okazaki et al. (2001) *PNAS* 98:13866-71).

«Лиганд-1 Запрограммированной Смерти (PD-L1)» является одним из двух гликопротеиновых лигандов клеточной поверхности для PD-1 (другим является PD-L2), которые подавляют активацию Т-клеток и секрецию цитокинов при связывании с PD-1. Используемый в настоящем документе термин «PD-L1» включает PD-L1 человека (hPD-L1), варианты, изоформы и видовые гомологи hPD-L1 и 5 аналогов, имеющих по меньшей мере один общий эпитоп с hPD-L1. Полная последовательность hPD-L1 находится под Инвентарным номером GenBank Q9NZQ7.

Используемые в настоящем документе термины «Лиганд-2 Запрограммированной Смерти» и «PD-L2» включают PD-L2 человека (hPD-L2), варианты, изоформы и видовые гомологи hPD-L2, а также аналоги, имеющие по меньшей мере один общий эпитоп с hPD-L2. Полная последовательность hPD-L2 находится под Инвентарным номером GenBank Q9BQ51.

Термин «пациент», используемый в настоящем документе, включает любого пациента, который имеет рак (напр., меланому). Термины «субъект» и «пациент» используются в настоящем документе взаимозаменяемо.

«Введение» относится к физическому введению композиции, содержащей терапевтический агент, субъекту с применением любого из различных способов и систем доставки, известных специалистам в данной области. Пути введения для композиций, раскрытых в настоящем документе, включают внутривенный, внутримышечный, подкожный, внутрибрюшинный, спинальный или другие парентеральные пути введения, например, путем инъекции или инфузии. Используемая в настоящем документе фраза «парентеральное введение» означает способы введения, отличные от энтерального и местного введения, обычно путем инъекции, и включает, без ограничения, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, интралимфатическую, внутричерепную, интракапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, эпидуральную и внутригрудинную инъекцию и инфузию, а также электропорацию *in vivo*. В некоторых вариантах выполнения изобретения композицию вводят непарентеральным путем, в некоторых вариантах выполнения изобретения перорально. Другие непарентеральные пути включают местный, эпидермальный путь или путь введения через слизистые оболочки, например, интраназальный, вагинальный, ректальный, сублингвальный или местный. Введение также может выполняться, например, один раз, несколько раз и/или в течение одного или более продолжительных периодов.

«Лечение» или «терапия» субъекта относится к любому осуществляемому типу вмешательства или процесса или введению активного агента субъекту с целью изменения, облегчения, улучшения, подавления, замедления или предотвращения начала, прогрессирования, развития, тяжести или рецидива симптома, осложнения или состояния или биохимических признаков, связанных с заболеванием.

Используемый в настоящем документе термин «эффективное лечение» относится к лечению, оказывающему благоприятный эффект, например, ослабление по меньшей мере одного симптома заболевания или расстройства. Благоприятный эффект может принимать форму улучшения по сравнению с исходным уровнем, то есть улучшения по сравнению с измерением или наблюдением, выполненным до начала терапии в соответствии со способом. Благоприятный эффект может также принимать форму остановки, замедления, торможения или стабилизации вредного прогрессирования маркера солидной опухоли. Эффективное лечение может относиться к облегчению по меньшей мере одного симптома солидной опухоли. Такое эффективное лечение может, например, уменьшить боль пациента, уменьшить размер и/или количество поражений,

может уменьшить или предотвратить метастазирование опухоли и/или может замедлить рост опухоли.

Термин «эффективное количество» относится к количеству агента, которое обеспечивает желаемый биологический, терапевтический и/или профилактический результат. Таким результатом может быть уменьшение, улучшение, смягчение, временное облегчение, задержка и/или облегчение одного или нескольких признаков, симптомов или причин заболевания или любое другое желательное изменение биологической системы. Что касается солидных опухолей, эффективное количество включает количество, достаточное для того, чтобы заставить опухоль сократиться и/или уменьшить скорость роста опухоли (такое как для подавления роста опухоли) или для предотвращения или задержки другой нежелательной пролиферации клеток. В некоторых вариантах выполнения изобретения эффективное количество представляет собой количество, достаточное для задержки развития опухоли. В некоторых вариантах выполнения изобретения эффективное количество представляет собой количество, достаточное для предотвращения или задержки рецидива опухоли. Эффективное количество может быть введено за одно или несколько введений. Эффективное количество лекарства или композиции может: (i) уменьшить количество раковых клеток; (ii) уменьшить размер опухоли; (iii) ингибировать, тормозить, замедлять до некоторой степени и может остановить проникновение раковых клеток в периферические органы; (iv) ингибировать (т.е. замедлять до некоторой степени и может останавливать метастазирование опухоли; (v) ингибировать рост опухоли; (vi) предотвращать или задерживать возникновение и/или рецидив опухоли и/или (vii) ослаблять до некоторой степени один или больше симптомов, связанных с раком. В одном примере «эффективное количество» представляет собой количество антитела против LAG-3 и количество антитела против PD-1 в комбинации, клинически доказанное как влияющее на значительное уменьшение рака или замедление прогрессирования рака, такого как не подлежащая радикальному лечению солидная опухоль. Используемые в настоящем документе термины «фиксированная доза», «доза, не требующая перерасчёта, исходя из площади поверхности тела или веса» и «фиксированная доза, не требующая перерасчёта, исходя из площади поверхности тела» используются взаимозаменяемо и относятся к дозе, которая вводится пациенту без учета веса или площади поверхности тела (BSA) пациента. Следовательно, фиксированная доза или доза, не требующая перерасчёта, исходя из площади поверхности тела или веса, предоставляется не в виде дозы мг/кг, а в виде абсолютного количества агента (напр., антитела против LAG-3 и/или антитела против PD-1).

Термин «выживаемость без прогрессирования», который можно сокращенно обозначать как PFS, в контексте настоящего описания относится к периоду времени во время и после лечения солидной опухоли (т.е. меланомы), в течение которого пациент живет с заболеванием, но ему не становится хуже.

«Интервал дозирования», как используется в настоящем документе, означает время, которое проходит между многократными дозами композиции, раскрытой в настоящем документе, вводимой субъекту. Таким образом, интервал дозирования может быть указан в виде диапазона.

Используемый в настоящем документе термин «частота дозирования» относится к частоте введения доз композиции, раскрытой в настоящем документе, в данное время. Частота дозирования может быть указана как количество доз в данный момент времени, напр., один раз в неделю или один раз в две недели.

Использование термина «фиксированная доза» в отношении композиции по изобретению означает, что два или более различных антигенов в одной композиции присутствуют в композиции в определенных (фиксированных) соотношениях друг с другом. В некоторых вариантах выполнения изобретения фиксированная доза основана на массе (напр., мг) антигенов. В определенных вариантах выполнения изобретения фиксированная доза основана на концентрации (напр., мг/мл) антигенов. В некоторых вариантах выполнения изобретения соотношение составляет по меньшей мере около 1:1, около 1:2, около 1:3, около 1:4, около 1:5, около 1:6, около 1:7, около 1:8, около 1:9, около 1:10, около 1:15, около 1:20, около 1:30, около 1:40, около 1:50, около 1:60, около 1:70, около 1:80, около 1:90, около 1:100, около 1:120, около 1:140, около 1:160, около 1:180, около 1:200, около 200:1, около 180:1, около 160:1, около 140:1, около 120:1, около 100:1, около 90:1, около 80:1, около 70:1, около 60:1, около 50:1, около 40:1, около 30:1, около 20:1, около 15:1, около 10:1, около 9:1, около 8:1, около 7:1, около 6:1, около 5:1, около 4:1, около 3:1 или около 2:1 мг первого антигена на мг второго антигена. Например, соотношение 3:1 первого антигена и второго антигена может означать, что флакон может содержать около 240 мг первого антигена и 80 мг второго антигена или около 3 мг/мл первого антигена и 1 мг/мл второго антигена.

Использование термина «фиксированная доза» в отношении композиции по изобретению означает дозу, которая вводится пациенту без учета веса или площади поверхности тела (BSA) пациента. Таким образом, фиксированная доза предоставляется не в виде дозы мг/кг, а в виде абсолютного количества агента (напр., антигена против LAG-3 и/или антигена против PD-1). Например, человек весом 60 кг и человек весом 100 кг будут получать одинаковую дозу композиции (напр., 240 мг антигена против PD-1 и

80 мг антитела против LAG-3 в одном флаконе с фиксированным дозированным составом, содержащим как 240 мг антитела против PD-1, так и 80 мг антитела против LAG-3 (или два флакона с фиксированным дозированным составом, содержащим 120 мг антитела против PD-1 и 40 мг антитела против LAG и др.)).

Термин «доза на основе веса», как упоминается в настоящем документе, означает, что доза, которая вводится пациенту, рассчитывается на основе веса пациента. Например, когда пациенту с массой тела 60 кг требуется 3 мг/кг антитела против LAG-3 в сочетании с 3 мг/кг антитела против PD-1, можно получить соответствующие количества антитела против LAG-3 (т.е. 180 мг) и антитела против PD-1 (т.е. 180 мг) одновременно в фиксированном дозированном составе с соотношением 1:1 антитела против LAG3 и антитела против PD-1.

Термины «около одного раза в неделю», «один раз в около неделю», «один раз около каждых двух недель» или любые другие подобные термины интервалов дозирования, используемые в настоящем документе, означают приблизительное число, и «около одного раза в неделю» или «один раз в около неделю» могут включать каждые семь дней $\pm$ два дня, т.е. от каждых пяти дней до каждых девяти дней. Частота дозирования «один раз в неделю», таким образом, может составлять каждые пять дней, каждые шесть дней, каждые семь дней, каждые восемь дней или каждые девять дней. «Один раз в около две недели» может включать каждые четырнадцать дней $\pm$ три дня, т.е. каждые одиннадцать дней или каждые семнадцать дней. Подобные аппроксимации применяются, например, для одного раза каждые три недели, одного раза каждые четыре недели, одного раза каждые пять недель, одного раза каждые шесть недель и одного раза каждые двенадцать недель. В некоторых вариантах выполнения изобретения интервал дозирования один раз каждые шесть недель или один раз каждые двенадцать недель означает, что первую дозу можно вводить в любой день в течение первой недели, а затем следующую дозу можно вводить в любой день на шестой или двенадцатой неделе соответственно. В других вариантах выполнения изобретения интервал дозирования один раз каждые шесть недель или один раз каждые двенадцать недель означает, что первая доза вводится в определенный день первой недели (напр., в понедельник), а затем следующая доза вводится в тот же день шестой или двенадцатой недели (т.е. понедельник) соответственно.

«Рак» относится к широкой группе различных заболеваний, характеризующихся неконтролируемым ростом аномальных клеток в организме. Нерегулируемое клеточное деление и рост приводят к образованию злокачественных опухолей, которые проникают в соседние ткани и могут также метастазировать в отдаленные части тела через

лимфатическую систему или кровоток. «Рак» или «раковая ткань» может включать опухоль.

Используемый в настоящем документе термин «опухоль» относится к любой массе ткани, являющейся результатом чрезмерного роста или пролиферации клеток, либо доброкачественной (не раковой), либо злокачественной (раковой), включая предраковые поражения.

Термин «положительный по LAG-3» или «положительный по экспрессии LAG-3», касающиеся экспрессии LAG-3, относится к доле клеток в образце тестируемой ткани, включающем опухолевые клетки и инфильтрирующие опухоль воспалительные клетки, выше которой образец ткани оценивается как экспрессирующий LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения для экспрессии LAG-3, анализируемой иммуногистохимией (ИHC), опухоль, положительная по LAG-3, или опухоль, положительная по экспрессии LAG-3, характеризуется тем, что по меньшей мере около 0,01%, по меньшей мере около 0,5%, по меньшей мере около 1%, по меньшей мере около 2%, по меньшей мере около 3%, по меньшей мере около 4%, по меньшей мере около 5%, по меньшей мере около 6%, по меньшей мере около 7%, по меньшей мере около 8%, по меньшей мере около 9%, по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90% или 100% от общего количества клеток экспрессируют LAG-3. В других вариантах выполнения изобретения для экспрессии LAG-3, анализируемой иммуногистохимией (ИHC) или проточной цитометрией, положительная по LAG-3 опухоль или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль характеризуется тем, что по меньшей мере около 0,01%, по меньшей мере около 0,5%, по меньшей мере около 1%, по меньшей мере около 2%, по меньшей мере около 3%, по меньшей мере около 4%, по меньшей мере около 5%, по меньшей мере около 6%, по меньшей мере около 7%, по меньшей мере около 8%, по меньшей мере около 9%, по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90% или 100% от общего количества инфильтрирующих опухоль воспалительных клеток (напр., Т-клеток, CD8+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток, FOXP3+ клеток) экспрессируют LAG-3. Положительная по LAG-3 опухоль или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль также может быть обозначена в настоящем документе как опухоль,

экспрессирующая LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 опухоль или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль характеризуется тем, что по меньшей мере от около 0,1% до по меньшей мере около 20% от общего числа клеток экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 опухоль или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль характеризуется тем, что по меньшей мере от около 0,1% до по меньшей мере около 20% от общего количества инфильтрирующих опухоль воспалительных клеток (напр., Т-клеток, CD8+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток, FOXP3+ клеток) экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 опухоль или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль характеризуется тем, что по меньшей мере от около 0,1% до по меньшей мере около 10% от общего количества клеток экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 опухоль или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль характеризуется тем, что по меньшей мере от около 0,1% до по меньшей мере около 10% от общего количества инфильтрирующих опухоль воспалительных клеток (напр., Т-клеток, CD8+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток, FOXP3+ клеток) экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль характеризуется тем, что по меньшей мере около 1% от общего числа клеток экспрессирует LAG-3 на поверхности клетки. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль характеризуется тем, что по меньшей мере около 1% от общего количества инфильтрирующих опухоль воспалительных клеток (напр., Т-клеток, CD8+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток, FOXP3+ клеток) экспрессируют LAG-3 на поверхности клетки. В других вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль характеризуется тем, что по меньшей мере около 5% от общего числа клеток экспрессируют LAG-3 на поверхности клетки. В других вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль характеризуется тем, что по меньшей мере около 5% от общего количества инфильтрирующих опухоль воспалительных клеток (напр., Т-клеток, CD8+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток, FOXP3+ клеток) экспрессируют LAG-3 на поверхности клетки. В одном конкретном варианте выполнения изобретения положительная по LAG-3 или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль характеризуется тем, что по меньшей мере около 1% или в диапазоне 1-5% от общего количества клеток экспрессирует LAG-3 на поверхности клетки. В одном конкретном варианте выполнения изобретения положительная по LAG-3 или положительная по

экспрессии LAG-3 опухоль характеризуется тем, что по меньшей мере около 1% или в диапазоне 1-5% от общего числа инфильтрирующих опухоль воспалительных клеток (напр., Т-клеток, CD8+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток, FOXP3+ клеток) экспрессирует LAG-3 на поверхности клетки.

«Отрицательный по LAG-3» или «отрицательный по экспрессии LAG-3» относится к отсутствию определяемого количества экспрессии LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения для экспрессии LAG-3, анализируемой с помощью ИНС, отрицательная по LAG-3 опухоль или отрицательная по экспрессии LAG-3 опухоль характеризуется тем, что менее 0,01% от общего числа клеток экспрессирует определяемый уровень LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения для экспрессии LAG-3, анализируемой с помощью ИНС или проточной цитометрии, отрицательная по LAG-3 опухоль или отрицательная по экспрессии LAG-3 опухоль характеризуется тем, что менее 0,01% от общего числа инфильтрирующих опухоль воспалительных клеток (напр., Т-клеток, CD8+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток, FOXP3+ клеток) экспрессирует определяемый уровень LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения для экспрессии LAG-3, анализируемой с помощью ИНС, отрицательная по LAG-3 опухоль или отрицательная по экспрессии LAG-3 опухоль характеризуется тем, что менее 1% от общего числа клеток экспрессирует определяемый уровень LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения для экспрессии LAG-3, анализируемой с помощью ИНС или проточной цитометрии, отрицательная по LAG-3 опухоль или отрицательная по экспрессии LAG-3 опухоль характеризуется тем, что менее 1% от общего числа инфильтрирующих опухоль воспалительных клеток (напр., Т-клеток, CD8+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток, FOXP3+ клеток) экспрессирует определяемый уровень LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения отрицательная по LAG-3 опухоль или отрицательная по экспрессии LAG-3 опухоль характеризуется тем, что ноль (0) клеток экспрессирует определяемый уровень LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения отрицательная по LAG-3 или отрицательная по экспрессии LAG-3 опухоль представляет собой любую опухоль, отличную от положительной по LAG-3 или положительной по экспрессии LAG-3 опухоли.

Термин «положительная по PD-L1» или «положительная по экспрессии PD-L1», относящийся к экспрессии PD-L1 на клеточной поверхности, относится к доле клеток в образце тестируемой ткани, содержащем опухолевые клетки и инфильтрующие опухоль воспалительные клетки, выше которой образец оценивается как экспрессирующий PD-L1 клеточной поверхности. Для экспрессии на клеточной поверхности, анализируемой с помощью иммуногистохимии (ИНС), напр., с помощью mAb 28-8, положительная по PD-

L1 опухоль или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль, характеризуется тем, что по меньшей мере около 0,01%, по меньшей мере около 0,5%, по меньшей мере 1%, по меньшей мере около 2%, по меньшей мере около 3%, по меньшей мере около 4%, по меньшей мере около 5%, по меньшей мере около 6%, по меньшей мере около 7%, по меньшей мере около 8%, по меньшей мере около 9%, по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25% или по меньшей мере около 30% общего количества клеток экспрессируют PD-L1. Положительная по PD-L1 опухоль или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль также может быть обозначена в настоящем документе как опухоль, экспрессирующая PD-L1. В других вариантах выполнения изобретения положительная по PD-L1 опухоль или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль характеризуется тем, что по меньшей мере от около 0,1% до по меньшей мере около 20% от общего числа клеток экспрессируют PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по PD-L1 опухоль или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль характеризуется тем, что по меньшей мере от около 0,1% до по меньшей мере около 10% от общего числа клеток экспрессируют PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по PD-L1 или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль характеризуется тем, что по меньшей мере около 1% от общего числа клеток экспрессирует PD-L1 на поверхности клетки. В других вариантах выполнения изобретения положительная по PD-L1 или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль характеризуется тем, что по меньшей мере около 5% от общего числа клеток экспрессируют PD-L1 на поверхности клетки. В одном конкретном варианте выполнения изобретения положительная по PD-L1 или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль характеризуется тем, что по меньшей мере около 1% или в диапазоне 1-5% от общего числа клеток экспрессируют PD-L1 на поверхности клетки.

Термин «отрицательный по PD-L1» или «отрицательный по экспрессии PD-L1», касающийся экспрессии PD-L1 на клеточной поверхности, относится к доле клеток в образце тестируемой ткани, содержащем опухолевые клетки и инфильтрующие опухоль воспалительные клетки, которые не являются положительными по PD-L1 или положительными по экспрессии PD-L1.

«Иммунный ответ» относится к действию клетки иммунной системы (напр., Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, естественных киллерных (NK) клеток, макрофагов, эозинофилов, тучных клеток, дендритных клеток и нейтрофилов) и растворимых макромолекул, продуцируемых любыми из этих клеток или печенью (включая антитела, цитокины и комплемент), которое приводит к селективному нацеливанию, связыванию,

повреждению, уничтожению и/или удалению из тела позвоночных патогенных микроорганизмов, клеток или тканей, инфицированных патогенами, раковых или других аномальных клеток или, в случае аутоиммунного или патологического воспаления, нормальных клеток или тканей человека.

«Инфильтрующая опухоль воспалительная клетка» представляет собой любой тип клетки, который обычно участвует в воспалительной реакции у субъекта и который проникает в опухолевую ткань. Такие клетки включают инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL), макрофаги, моноциты, эозинофилы, гистиоциты и дендритные клетки.

Кроме того, «и/или» при использовании в настоящем документе следует понимать как конкретное раскрытие каждого из двух указанных признаков или компонентов с другим или без него. Таким образом, термин «и/или», используемый во фразе, такой как «А и/или В», предназначен для включения «А и В», «А или В», «А» (отдельно) и «В» (отдельно). Аналогичным образом, термин «и/или», используемый в такой фразе, как «А, В и/или С», предназначен для охвата каждого из следующих аспектов: А, В и С; А, В или С; А или С; А или В; В или С; А и С; А и В; В и С; А (отдельно); В (отдельно); и С (отдельно).

Понятно, что везде, где аспекты описаны в настоящем документе на языке «содержащий», также обеспечиваются аналогичные аспекты, описанные в терминах «состоящий из» и/или «состоящий по существу из».

Термины «около» или «по существу включающий» относятся к значению или композиции, которые находятся в допустимом диапазоне ошибок для конкретного значения или композиции, как определяется специалистом в данной области техники, который будет частично зависеть от того, как значение или композиция измеряется или определяется, т.е. к ограничению системой измерений. Например, «около» или «по существу включающий» может означать в пределах 1 или более 1 стандартного отклонения для практики в данной области техники. Альтернативно, «около» или «по существу включающий» может означать диапазон вплоть до 10% или 20% (т.е. $\pm 10\%$ или $\pm 20\%$). Например, около 3 мг может включать любое количество от 2,7 до 3,3 мг (для 10%) или от 2,4 до 3,6 мг (для 20%). Кроме того, особенно в отношении биологических систем или процессов, эти термины могут означать вплоть до порядка величины или вплоть до 5-кратного значения. Если в заявке и формуле изобретения указаны конкретные значения или композиции то, если не указано иное, следует предполагать, что значение «около» или «по существу включающий» находится в допустимом диапазоне ошибок для этого конкретного значения или композиции.

Как описано в настоящем документе, любой диапазон концентрации, процентный диапазон, диапазон соотношения или целочисленный диапазон следует понимать как включающий значение любого целого числа в указанном диапазоне и, при необходимости, его дробь (такую как одну десятую и одну сотую целого числа), если не указано иное.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области техники, к которой относится настоящее раскрытие. Например, the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 5th ed., 2013, Academic Press; и the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, 2006, Oxford University Press предоставляют специалисту общий словарь для многих терминов, использованных в настоящей заявке.

Единицы, префиксы и символы обозначаются в принятой форме согласно *Système International de Unites (SI)*. Числовые диапазоны включают числа, определяющие диапазон. Заголовки, представленные в настоящем документе, не являются ограничениями различных аспектов раскрытия, которые могут быть получены со ссылкой на описание в целом. Соответственно, термины, определенные непосредственно ниже, более полно определены посредством ссылки на описание во всей их полноте.

Различные аспекты изобретения описаны более подробно в следующих подразделах.

2. Способы по Изобретению

В одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения положительной по LAG-3 злокачественной опухоли (напр., меланомы) у субъекта, нуждающегося в этом. Комбинированная терапия ингибитором LAG-3 (напр., антителом против LAG-3) и ингибитором пути PD-1 (напр., антителом против PD-1) приводит к лучшим терапевтическим результатам (напр., показателю объективного ответа и показателю контроля заболевания) в популяции пациентов с положительными по LAG-3 злокачественными опухолями (напр., меланомой), чем в общей популяции пациентов, имеющих сочетание отрицательных по LAG-3 злокачественных опухолей и положительных по LAG-3 злокачественных опухолей. Для того чтобы улучшить лечение злокачественных опухолей, в одном аспекте настоящее изобретение относится к идентификации пациента с положительной по LAG-3 опухолью и предоставлению

иммунотерапии ингибитором LAG-3 (напр., антителом против LAG-3) и ингибитором пути PD-1 (напр., антителом против PD-1).

В другом аспекте настоящее изобретение направлено на идентификацию пациента, имеющего положительную по LAG-3 опухоль, и на лечение положительной по LAG-3 опухоли путем введения ингибитора пути PD-1 (напр., антитела против PD-1) или комбинации ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В одном варианте выполнения изобретение включает способ идентификации пациента как имеющего положительную по LAG-3 опухоль и лечения положительной по LAG-3 опухоли путем введения антитела против PD-1. В одном варианте выполнения изобретение включает способ идентификации пациента как имеющего положительную по LAG-3 опухоль и лечения положительной по LAG-3 опухоли путем введения антитела против PD-L1.

В другом аспекте настоящее изобретение направлено на идентификацию пациента с положительной по LAG-3 опухолью и лечение положительной по LAG-3 опухоли путем введения антитела против CTLA-4.

В одном варианте выполнения изобретение включает способ выбора злокачественной опухоли у пациента-человека для иммунотерапии, включающий: (a) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и (b) выбор опухоли для иммунотерапии, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль. В одном варианте выполнения изобретение включает способ идентификации злокачественной опухоли у пациента-человека как подходящей для иммунотерапии, включающий: (a) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и (b) определение опухоли как подходящей для иммунотерапии, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль. В одном варианте выполнения изобретение включает способ идентификации злокачественной опухоли у пациента-человека, который может быть чувствительным к иммунотерапии, где способ включает: (a) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и (b) выявление опухоли, которая, вероятно, поддается лечению, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью. В одном варианте выполнения изобретение включает способ идентификации злокачественной опухоли у пациента-человека, которая может быть чувствительной к иммунотерапии, где способ включает: (a) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и (b) идентификацию опухоли, которая, вероятно, поддается лечению, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью. В одном варианте выполнения изобретение включает способ классификации злокачественной опухоли у пациента-человека как вероятно чувствительной к иммунотерапии, включающий: (a)

определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и (b) классификацию опухоли как вероятно отвечающей на иммунотерапию, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством антитела против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством антитела против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством антитела против CTLA-4. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством антитела против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством антитела против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством антитела против CTLA-4. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает введение пациенту терапевтически

эффективного количества ингибитора LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1. В определенных вариантах выполнения изобретения любой из настоящих способов дополнительно включает определение экспрессии PD-L1 в образце опухоли.

В одном варианте выполнения изобретение включает способ идентификации пациента со злокачественной опухолью, которая, вероятно, отвечает на иммунотерапию, включающий: (а) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и (b) идентификацию пациента, который, вероятно, отвечает на лечение, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью. В одном варианте выполнения изобретение включает способ выбора пациента со злокачественной опухолью для иммунотерапии, включающий: (а) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и (b) выбор пациента для иммунотерапии, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством антитела против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством антитела против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством антитела против CTLA-4. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения изобретения

способ включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством антитела против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством антитела против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством антитела против CTLA-4. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1. В определенных вариантах выполнения изобретения любой из настоящих способов дополнительно включает определение экспрессии PD-L1 в образце опухоли.

В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, включающий: введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе; где было спрогнозировано, что пациент отвечает на лечение ингибитором LAG-3 и ингибитором пути PD-1 на основе экспрессии LAG-3 или на основе экспрессии LAG-3 и PD-L1 в образце опухоли пациента. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3

представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1.

В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий: (а) определение уровня экспрессии LAG-3 или уровня экспрессии LAG-3 и PD-L1 в образце опухоли; и (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 опухоль. В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий: (а) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль; и (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3. В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3.

В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий: (а) определение уровня экспрессии LAG-3 или уровня экспрессии LAG-3 и PD-L1 в образце опухоли; и (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 опухоль. В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий: (а) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль; и (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1. В одном варианте

выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль.

В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий: (a) определение уровня экспрессии LAG-3 или уровня экспрессии LAG-3 и PD-L1 в образце опухоли; и (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 опухоль. В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий: (a) идентификацию пациента, имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль; и (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4. В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль.

В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий: (а) определение уровня экспрессии LAG-3 или уровня экспрессии LAG-3 и PD-L1 в образце опухоли; и (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 опухоль. В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий: (а) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль; и (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у нуждающегося в этом пациента-человека, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1.

В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий: (а) определение уровня экспрессии LAG-3 или уровня экспрессии LAG-3 и PD-L1 в образце опухоли; и (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 опухоль. В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий: (а) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3

злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль; и (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у нуждающегося в этом пациента-человека, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1.

В другом варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения

изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1.

В определенных вариантах выполнения изобретение включает способ продления периода выживаемости без прогрессирования на более чем 12 месяцев у пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающий введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением, где пациент демонстрирует выживаемость без прогрессирования в течение более чем 12 месяцев. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения выживаемость пациента без прогрессирования может быть продлена после введения на более чем 13 месяцев, около 14 месяцев, около 15 месяцев, около 16 месяцев, около 17 месяцев, около 18 месяцев, около 2 лет, около 3 лет, около 4 лет, около 5 лет, около 6 лет, около 7 лет, около 8 лет, около 9 лет или около 10 лет. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-L1.

В еще других вариантах выполнения изобретение включает способ уменьшения размера опухоли по меньшей мере на 10% у пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающий введение пациенту иммунотерапии, раскрытой

в настоящем документе, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль (напр., меланому) или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением, и где введение уменьшает размер опухоли по меньшей мере на около 10%, около 20%, около 30%, около 40%, около 50%, около 60%, около 70%, около 80%, около 90% или 100% по сравнению с размером опухоли перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества антитела против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества антитела против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-L1.

Изобретение также может включать способ предотвращения рецидива и/или индукции ремиссии у пациента, включающий введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль (напр., меланому) или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ по изобретению

включает (i) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль; (ii) введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества антитела против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества антитела против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-L1.

В определенных вариантах выполнения изобретение включает способ увеличения показателя объективного ответа до более чем 55% в популяции пациентов, где каждый пациент из популяции пациентов имеет злокачественную опухоль, при лечении рака, включающий введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль (напр., меланому) или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением, и где показатель объективного ответа выше 55%, 60%, 65%, 70% или 75%. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых

вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и антитела против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и антитела против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-L1.

В определенных вариантах выполнения изобретение включает способ увеличения показателя контроля заболевания до более чем 55% в популяции пациентов, где каждый пациент из популяции пациентов имеет злокачественную опухоль, при лечении рака, включающий введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль (напр., меланому) или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением, и где показатель контроля заболевания выше чем 55% 60%, 65%, 70% или 75%. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения

иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества антитела против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества антитела против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-L1.

В других вариантах выполнения изобретения каждый пациент в способах испытывает (i) продленную выживаемость без прогрессирования на более чем 12 месяцев, (ii) уменьшение размера опухоли по меньшей мере на около 10%, около 20%, около 30%, около 40% или около 50% по сравнению с размером опухоли перед введением или (iii) оба. В некоторых вариантах выполнения изобретения популяция пациентов может представлять собой по меньшей мере 100 пациентов, имеющих положительную по LAG-3 злокачественную опухоль (напр., меланому) или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения популяция пациентов может составлять по меньшей мере 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 или 1000 пациентов, имеющих положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль.

В дополнительных вариантах выполнения изобретение относится к способу выбора пациента-человека, подходящего для комбинированной терапии, включающему:

(а) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль; и (b) инструктаж медицинского работника о введении пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль. Способ может дополнительно включать введение иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения введение лечит злокачественную опухоль.

Способы по изобретению в результате введения иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе, могут лечить злокачественную опухоль, уменьшать размер опухоли, предотвращать рост опухоли, устранять опухоль у пациента, предотвращать рецидив опухоли, вызывать ремиссию у пациента или любую их комбинацию. В определенных вариантах выполнения изобретения введение иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе, вызывает полный ответ. В других вариантах выполнения изобретения введение иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе, вызывает частичный ответ. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и

ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-L1.

В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 опухоль содержит по меньшей мере около 1%, по меньшей мере около 2%, по меньшей мере около 3%, по меньшей мере около 4%, по меньшей мере около 5%, по меньшей мере около 7%, по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90% или 100% клеток, экспрессирующих LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения клетки, экспрессирующие LAG-3, содержат инфильтрирующие опухоль лимфоциты.

В некоторых вариантах выполнения изобретения идентификация включает определение экспрессии LAG-3 в злокачественной опухоли.

В некоторых вариантах выполнения изобретения экспрессия LAG-3 определяется путем получения результатов анализа, способного определять экспрессию LAG-3.

В определенных вариантах выполнения изобретения любой из настоящих способов дополнительно включает определение экспрессии PD-L1 в образце опухоли.

В определенных вариантах выполнения изобретения любой из настоящих способов дополнительно включает идентификацию пациента как имеющего положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В определенных

вариантах выполнения изобретения любой из настоящих способов дополнительно включает идентификацию пациента как имеющего отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением.

В определенных вариантах выполнения изобретения любой из настоящих способов дополнительно включает определение экспрессии PD-L1 в злокачественной опухоли.

В определенных вариантах выполнения любого из настоящих способов пациент идентифицируется как имеющий положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением. В определенных вариантах выполнения любого из настоящих способов пациент идентифицируется как имеющий отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением.

Способ определения экспрессии PD-L1 в образце опухоли, способы идентификации пациента как имеющего положительную по PD-L1 злокачественную опухоль и способы определения экспрессии PD-L1 в злокачественной опухоли были раскрыты в PCT/US2016/029878.

В определенных вариантах выполнения изобретения способы по изобретению включают способы лечения пациента-человека с неоперабельной или метастатической меланомой, нуждающегося в этом, комбинацией ингибитора пути PD-1 и ингибитора LAG-3, где пациент ранее получал лечение ингибитором против PD-1 и/или ингибитором против PD-L1. В определенных вариантах выполнения изобретения ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1. В конкретных вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело LAG-3 представляет собой BMS-986016. В вариантах выполнения изобретения меланома представляет собой опухоль, экспрессирующую LAG-3. В конкретных вариантах выполнения изобретения меланома представляет собой опухоль, экспрессирующую LAG-3, с экспрессией LAG-3 $\geq 1\%$.

Измерение экспрессии LAG-3

В определенных вариантах выполнения изобретения идентификация пациента, подходящего для комбинированной терапии ингибитором LAG-3/ ингибитором пути PD-1, терапии ингибитором пути PD-1 (напр., антителом против PD-1) или терапии антителом против CTLA-4 по настоящим способам включает измерение или оценку экспрессии LAG-3 в образце, например, в образце ткани для изучения злокачественной

опухоли, содержащем опухолевые клетки и инфильтрирующие опухоль воспалительные клетки. Фразы «опухоли, экспрессирующие LAG-3», «экспрессирующая LAG-3 опухоль», «положительная по LAG-3 опухоль» и «положительная по экспрессии LAG-3 опухоль» используются в настоящем документе взаимозаменяемо и охватывают опухоли, содержащие инфильтрирующие опухоль лимфоциты, экспрессирующие LAG-3. Значение фраз приведено в настоящем документе в других местах. Способы измерения или оценки экспрессии LAG-3 могут быть достигнуты любыми применимыми методами.

Для того чтобы оценить экспрессию LAG-3, в одном варианте выполнения изобретения образец испытуемой ткани получают от пациента, который нуждается в терапии. В некоторых вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани включает, но без ограничения, любой клинически значимый образец ткани, такой как биопсия опухоли, образец кор-биопсии ткани, тонкоигольный аспират или образец физиологической жидкости, такой как кровь, плазма, сыворотка, лимфа, асцитная жидкость, кистозная жидкость или моча. В некоторых вариантах выполнения изобретения образец исследуемой ткани взят из первичной опухоли. В некоторых вариантах выполнения изобретения образец исследуемой ткани взят из метастаза. В некоторых вариантах выполнения изобретения образцы исследуемой ткани отбираются у субъекта в несколько временных точек, например, до лечения, во время лечения и/или после лечения. В некоторых вариантах выполнения изобретения образцы тестируемой ткани берутся из разных мест у субъекта, например, из образца первичной опухоли и метастазы в отдаленном месте.

В некоторых вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани представляет собой зафиксированный формалином и погруженный в парафин образец ткани. В некоторых вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани представляет собой зафиксированный формалином и погруженный в парафин (FFPE) образец ткани. В некоторых вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани представляет собой образец свежей ткани (напр., опухоли). В некоторых вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани представляет собой образец замороженной ткани. В некоторых вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани представляет собой образец свежезамороженной (FF) ткани (напр., опухоли). В некоторых вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани представляет собой клетку, выделенную из жидкости. В некоторых вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани содержит циркулирующие опухолевые клетки (CTC). В некоторых вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани содержит инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL). В некоторых

вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани содержит опухолевые клетки и инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL). В некоторых вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани содержит циркулирующие лимфоциты. В некоторых вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани представляет собой образец архивной ткани. В некоторых вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани представляет собой архивный образец ткани с известным диагнозом, лечением и/или историей исхода. В некоторых вариантах выполнения изобретения образец представляет собой блок ткани. В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани представляет собой диспергированные клетки. В некоторых вариантах выполнения изобретения размер образца составляет от около 1 клетки до около 1×10^6 клеток или более. В некоторых вариантах выполнения изобретения размер образца составляет от около 1 клетки до около 1×10^5 клеток. В некоторых вариантах выполнения изобретения размер образца составляет от около 1 клетки до около 10000 клеток. В некоторых вариантах выполнения изобретения размер образца составляет от около 1 клетки до около 1000 клеток. В некоторых вариантах выполнения изобретения размер образца составляет от около 1 до около 100 клеток. В некоторых вариантах выполнения изобретения размер образца составляет от около 1 до около 10 клеток. В некоторых вариантах выполнения изобретения размер образца представляет собой одну клетку.

В другом варианте выполнения изобретения оценка экспрессии LAG-3 может быть достигнута без получения образца исследуемой ткани. В некоторых вариантах выполнения изобретения выбор подходящего пациента включает (i) необязательно предоставление образца тестируемой ткани, полученного от пациента с раком ткани, причем образец тестируемой ткани содержит опухолевые клетки и/или инфильтрирующие опухоль воспалительные клетки; и (ii) оценку доли клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3 на поверхности клеток, на основе оценки того, что доля клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3 на поверхности клеток, выше, чем заданный пороговый уровень.

Однако в любом из способов, включающих измерение экспрессии LAG-3 в образце тестируемой ткани, следует понимать, что стадия, включающая предоставление образца тестируемой ткани, полученной от пациента, является необязательной стадией. То есть в определенных вариантах выполнения изобретения способ включает эту стадию, а в других вариантах выполнения изобретения эта стадия не включена в способ. Следует также понимать, что в определенных вариантах выполнения изобретения стадию «измерения» или «оценки» для идентификации или определения количества или

доли клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3, выполняют с помощью трансформационного метода анализа экспрессии LAG-3, например, путем проведения анализа полимеразной цепной реакции с обратной транскриптазой (RT-PCR) или анализа ИНС. В определенных других вариантах выполнения изобретения никакой трансформационной стадии нет, и экспрессия LAG-3 оценивается, например, путем просмотра отчета о результатах испытаний из лаборатории. В определенных вариантах выполнения изобретения экспрессия LAG-3 оценивается путем анализа результатов иммуногистохимического анализа из лаборатории. В определенных вариантах выполнения изобретения стадии способов вплоть до и включая оценку экспрессии LAG-3 обеспечивают промежуточный результат, который может быть предоставлен врачу или другому медицинскому работнику для использования при выборе подходящего кандидата для комбинированной терапии ингибитором LAG-3 и ингибитором пути PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения стадии способов вплоть до и включая оценку экспрессии LAG-3 обеспечивают промежуточный результат, который может быть предоставлен врачу или другому медицинскому работнику для использования при выборе подходящего кандидата для терапии ингибитором пути PD-1 (напр., антителом против PD-1). В определенных вариантах выполнения изобретения стадии способов вплоть до и включая оценку экспрессии LAG-3 обеспечивают промежуточный результат, который может быть предоставлен врачу или другому медицинскому работнику для использования при выборе подходящего кандидата для терапии антителом против CTLA-4. В определенных вариантах выполнения изобретения стадии, которые обеспечивают промежуточный результат, выполняются практикующим врачом или лицом, действующим под руководством практикующего врача. В других вариантах выполнения изобретения эти стадии выполняются независимой лабораторией или независимым лицом, таким как лаборант.

В определенных вариантах выполнения любого из настоящих способов пропорцию клеток, которые экспрессируют LAG-3, оценивают, выполняя анализ для обнаружения присутствия РНК LAG-3. В дополнительных вариантах выполнения изобретения присутствие РНК LAG-3 детектируют с помощью RT-PCR, гибридизации *in situ* или защиты от РНКазы. В некоторых вариантах выполнения изобретения присутствие РНК LAG-3 обнаруживают с помощью анализа на основе RT-PCR. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка на основе анализа RT-PCR включает оценку уровня экспрессии РНК LAG-3 в образце тестируемой ткани относительно предварительно определенного уровня.

В других вариантах выполнения изобретения пропорцию клеток, которые экспрессируют LAG-3, оценивают путем проведения анализа для обнаружения присутствия полипептида LAG-3. В дополнительных вариантах выполнения изобретения присутствие полипептида LAG-3 обнаруживают с помощью ИНС, иммуноферментного анализа (ELISA), визуализации *in vivo* или проточной цитометрии. В некоторых вариантах выполнения изобретения экспрессию LAG-3 анализируют с помощью ИНС. В других вариантах выполнения изобретения всех этих способов экспрессию LAG-3 на клеточной поверхности анализируют с использованием, например, ИНС или визуализации *in vivo*.

В вариантах выполнения изобретения измеряемым биомаркером является LAG-3, CD4, CD8, FOXP3, CD163 CD68 и любая их комбинация. В вариантах выполнения изобретения биомаркер измеряется с использованием любого способа обнаружения, раскрытого в настоящем документе. В других вариантах выполнения изобретения долю клеток, которые экспрессируют LAG-3 в образце тестируемой ткани, оценивают с помощью проточной цитометрии. В некоторых вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани, анализируемый проточной цитометрией, содержит инфильтрующие опухоль иммунные клетки. В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой гематологическое злокачественное образование, и образец ткани, анализируемый проточной цитометрией, содержит клетки периферической крови. В некоторых вариантах выполнения изобретения проточная цитометрия представляет собой мультиплексный анализ. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка с помощью проточной цитометрии включает обнаружение экспрессии маркеров, содержащих LAG-3, CD4, CD8, FOXP3 и любую их комбинацию. В некоторых вариантах выполнения изобретения LAG-3, CD4, CD8 и FOXP3 обнаруживаются в качестве одиночных маркеров. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка проточной цитометрией включает оценку доли Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка проточной цитометрией включает оценку доли CD8⁺ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка проточной цитометрией включает оценку доли CD4⁺ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка проточной цитометрией включает оценку доли FOXP3⁺ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка проточной цитометрией включает обнаружение экспрессии маркеров,

содержащих CD163 и/или CD68. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка проточной цитометрией включает оценку доли клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют CD163 и/или CD68.

В определенных вариантах выполнения любого из настоящих способов пропорцию клеток, которые экспрессируют LAG-3 в образце тестируемой ткани, оценивают путем проведения анализа для обнаружения присутствия полипептида LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения присутствие полипептида LAG-3 обнаруживают с помощью иммуногистохимического анализа. В некоторых вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани представляет собой биопсию опухоли. В некоторых вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани представляет собой зафиксированный формалином и погруженный в парафин (FFPE) образец.

В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ представляет собой моноплексный анализ. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ представляет собой мультиплексный анализ. В некоторых вариантах выполнения изобретения мультиплексный иммуногистохимический анализ способен обнаруживать присутствие CD4, CD8, FOXP3, CD163, CD68 или любой их комбинации.

В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ включает контактирование образца опухоли с 17B4 мышинным моноклональным антителом IgG1 против LAG-3 человека. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ включает контактирование образца опухоли с антителом против LAG-3, содержащим переменные области тяжелой и легкой цепи, содержащие последовательности, приведенные в SEQ ID NO:3 и 5 соответственно. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ включает контактирование образца опухоли с SP346 кроличьим моноклональным антителом IgG против LAG-3 человека. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ включает контактирование образца опухоли с 11E3 (Novusbio), 874501 (Novusbio) или EPR4392(2) (Abcam) моноклональным антителом против LAG-3 человека.

Меланин, например, в образцах опухоли меланомы, может мешать гистологическому анализу, скрывая гистологические особенности и мешая окрашиванию и/или маскируя его при иммуногистохимии (ИHC). Меланин может быть удален путем отбеливания образцов. См., напр., Shen & Wu, *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 23(4): 303–307 (2015); Orchard & Calonje, *Am J Dermatopathol*, 20(4): 357-61

(1998). В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ включает отбеливание меланина перед контактом образца с антителом против LAG-3. См., напр., Фигуру 15. В некоторых вариантах выполнения изобретения отбеливание меланина включает контактирование образца с разбавленной перекисью водорода (от 0,1 до 30% об./об.), трихлоризоциануровой кислотой (ТССА), перманганатом калия/щавелевой кислотой или другими традиционными способами окисления для депигментирования (т.е. удаления меланина из) образцов тканей.

В некоторых вариантах выполнения изобретения в иммуногистохимическом анализе используется черный или коричневый хромоген. В некоторых вариантах выполнения изобретения в иммуногистохимическом анализе используется красный хромоген. В некоторых вариантах выполнения изобретения в иммуногистохимическом анализе используется синий хромоген. В некоторых вариантах выполнения изобретения в иммуногистохимическом анализе используется зеленый хромоген. В некоторых вариантах выполнения изобретения в иммуногистохимическом анализе используется пурпурный хромоген. В некоторых вариантах выполнения изобретения в иммуногистохимическом анализе используется желтый хромоген.

В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ оценивают при небольшом увеличении. В некоторых вариантах выполнения изобретения небольшое увеличение составляет около 20X. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ оценивают при высоком увеличении. В некоторых вариантах выполнения изобретения высокое увеличение составляет около 40X.

В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ оценивают с помощью программного обеспечения для анализа изображений. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ оценивают по визуальной иммунологической оценке патолога. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ оценивают вручную.

В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли иммунных клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического

анализа включает оценку доли CD8⁺ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли CD4⁺ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли FOXP3⁺ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3.

Локализация полипептида LAG-3 включает частичную мембранную/цитоплазматическую локализацию, точечную локализацию, перинуклеарную и полную мембранную/цитоплазматическую локализацию. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценивают клетки с частичной мембранной/цитоплазматической локализацией LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценивают клетки с точечной локализацией LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценивают клетки с полной мембранной/цитоплазматической локализацией LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценивают клетки с перинуклеарной локализацией LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценивают клетки с любым паттерном локализации LAG-3.

В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ представляет собой мультиплексный анализ, который дополнительно включает обнаружение экспрессии МНС Класса II опухолевыми клетками. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют МНС Класса II. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли неиммунных клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют МНС Класса II. В некоторых вариантах выполнения изобретения распределение клеток, экспрессирующих МНС II, является гетерогенным в образце опухоли. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли клеток, которые экспрессируют МНС Класса II в областях образца опухоли, содержащих высокую плотность клеток, экспрессирующих МНС Класса II.

В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ представляет собой мультиплексный анализ, который дополнительно включает обнаружение экспрессии CD163 и/или CD68 инфильтрирующими опухоль лимфоцитами (TIL). В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка

иммуногистохимического анализа включает оценку доли TIL в образце тестируемой ткани, которая экспрессирует CD163 и/или CD68.

Методики визуализации предоставили важные инструменты в исследовании и лечении рака. Последние разработки в области систем молекулярной визуализации, включая позитронно-эмиссионную томографию (PET), однофотонную эмиссионную компьютерную томографию (SPECT), флуоресцентную отражательную визуализацию (FRI), флуоресцентно-опосредованную томографию (FMT), биолюминесцентную визуализацию (BLI), лазерную сканирующую конфокальную микроскопию (LSCM) и мультифотонную микроскопию (MPM), вероятно, предвещают еще более широкое использование этих методик в исследовании рака. Некоторые из этих систем молекулярной визуализации позволяют клиницистам не только видеть, где находится опухоль в организме, но также визуализировать экспрессию и активность определенных молекул, клеток и биологических процессов, которые влияют на поведение опухоли и/или реагируют на терапевтические препараты (Condeelis and Weissleder, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2(12):a003848 (2010)). Специфичность антител в сочетании с чувствительностью и разрешением PET делает иммуно-PET визуализацию особенно привлекательной для мониторинга и анализа экспрессии антигенов в образцах тканей (McCabe and Wu, *Cancer Biother. Radiopharm.* 25(3):253-61 (2010); Olafsen *et al.*, *Protein Eng. Des. Sel.* 23(4):243-9 (2010)). В определенных вариантах выполнения любого из настоящих способов экспрессию LAG-3 анализируют с помощью иммуно-PET визуализации. В определенных вариантах выполнения изобретения иммуно-PET проводят с использованием меченного цирконием-89 антитела против LAG-3. В определенных вариантах выполнения изобретения любого из настоящих способов пропорцию клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3, оценивают путем проведения анализа для определения присутствия полипептида LAG-3 на клеточной поверхности в образце тестируемой ткани. В определенных вариантах выполнения изобретения образец тестируемой ткани представляет собой образец ткани FFPE. В других вариантах выполнения изобретения присутствие полипептида LAG-3 определяют с помощью анализа ИHC. В дополнительных вариантах выполнения изобретения анализ ИHC выполняют с использованием автоматизированного процесса. В некоторых вариантах выполнения изобретения анализ ИHC выполняют с использованием mAb против LAG-3 для связывания с полипептидом LAG-3.

Анализ Экспрессии LAG-3 с помощью Автоматизированной ИHC

В одном варианте выполнения настоящих способов для анализа экспрессии LAG-3 в образцах ткани FFPE используется автоматизированный способ ИНС. В настоящем описании раскрываются способы обнаружения присутствия антигена LAG-3 человека в образце тестируемой ткани или количественного определения уровня антигена LAG-3 человека или доли клеток в образце, которые экспрессируют антиген, причем эти способы включают контактирование тестируемого образца и образца отрицательного контроля с mAb, который специфически связывается с LAG-3 человека, в условиях, которые допускают образование комплекса между антителом или его частью и LAG-3 человека. В определенных вариантах выполнения изобретения образцы для испытаний и контроля представляют собой образцы FFPE. Затем детектируют образование комплекса, причем различие в образовании комплекса между тестируемым образцом и образцом отрицательного контроля указывает на присутствие в образце антигена LAG-3 человека. Для количественной оценки экспрессии LAG-3 используются различные способы.

В конкретном варианте выполнения изобретения автоматизированный способ ИНС включает: (a) депарафинизацию и регидратацию зафиксированных секций ткани в автоприспособлении для окраски; (b) извлечение антигена в автоприспособлении для окраски; (c) помещение реагентов на автоприспособление для окраски; и (d) запуск автоприспособления для окраски для включения этапов нейтрализации эндогенной пероксидазы в образце ткани; блокирования неспецифических связывающих белок сайтов на предметных стеклах; инкубирования слайдов с первичным Ab; инкубирования с постпраймерным блокирующим агентом; инкубирования с постпраймерным детектирующим агентом, таким как другое антитело, которое может или не может быть конъюгировано с детектирующим ферментом; инкубирования с реагентом для обнаружения полимерных ферментов; добавления хромогенного субстрата и проявления; и контрастного окрашивания с гематоксилином. В некоторых вариантах выполнения изобретения извлечение антигена включает использование любого устройства на основе тепла для извлечения антигена.

В некоторых вариантах выполнения изобретения для оценки экспрессии LAG-3 в образцах опухолевой ткани патолог исследует количество опухолевых клеток LAG-3+ в каждом поле под микроскопом и мысленно оценивает процент положительных клеток, а затем усредняет их, чтобы прийти к окончательному проценту. Различные интенсивности окрашивания определяются как 0/отрицательное, 1+/слабое, 2+/умеренное и 3+/сильное. Как правило, процентные значения сначала присваиваются сегментам 0 и 3+, а затем рассматриваются промежуточные интенсивности 1+ и 2+. Для

высокогетерогенных тканей образец делится на зоны, и каждая зона оценивается отдельно, а затем объединяется в один набор процентных значений. Процентное содержание отрицательных и положительных клеток для разных интенсивностей окрашивания определяется для каждой области, а медианное значение присваивается каждой зоне. Окончательное процентное значение дается ткани для каждой категории интенсивности окрашивания: отрицательное, 1+, 2+ и 3+. Сумма всех интенсивностей окрашивания должна составлять 100%.

В некоторых вариантах выполнения изобретения окрашивание также оценивают в инфильтрирующих опухоль воспалительных клетках, таких как макрофаги и лимфоциты. Макрофаги и лимфоциты оцениваются на предмет окрашивания LAG-3 и регистрируются для всех образцов только как положительные или отрицательные для каждой категории клеток. Окрашивание также характеризуется по внешнему/внутреннему обозначению опухолевых иммунных клеток. «Внутри» означает, что иммунная клетка находится в опухолевой ткани и/или на границах опухолевой области без физического интеркалирования между опухолевыми клетками. «Снаружи» означает, что нет физической ассоциации с опухолью, иммунные клетки находятся на периферии, связанной с соединительной или любой связанной с ней соседней тканью.

В определенных вариантах выполнения этих способов оценки, образцы оцениваются двумя или более патологами, работающими независимо, и оценки затем объединяются. В определенных других вариантах выполнения изобретения идентификация положительных и отрицательных клеток оценивается с использованием соответствующего программного обеспечения.

Гисто-показатель (H-показатель) используется в качестве более количественного показателя данных ИНС. Гисто-показатель рассчитывается следующим образом:

$$\text{Гисто-показатель} = [(\% \text{ опухоли} \times 1 \text{ (низкая интенсивность)}) + (\% \text{ опухоли} \times 2 \text{ (средняя интенсивность)}) + (\% \text{ опухоли} \times 3 \text{ (высокая интенсивность)})]$$

Чтобы определить гисто-показатель, патолог оценивает процент окрашенных клеток в каждой категории интенсивности в образце. Поскольку экспрессия большинства биомаркеров неоднородна, гисто-показатель является более достоверным представлением общей экспрессии. Конечный диапазон гисто-показателя составляет от 0 (минимальный балл, нет экспрессии) до 300 (максимальный балл, сильная и инклюзивная экспрессия).

3. Ингибиторы LAG-3

В одном аспекте изобретение относится к способам применения ингибитора LAG-3 для лечения злокачественных опухолей. Используемый в настоящем документе ингибитор LAG-3 включает, но без ограничения, связывающие LAG-3 агенты и растворимые полипептиды LAG-3. Связывающие LAG-3 агенты включают антитела, которые специфически связываются с LAG-3.

В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой связывающий LAG-3 агент, например, антитело против LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой растворимый полипептид LAG-3, например, слитый полипептид LAG-3-Fc, способный связываться с МНС Класса II.

Антитела против LAG-3 человека (или полученные из них домены VH/VL), подходящие для использования в изобретении, могут быть получены с использованием способов, хорошо известных в данной области. Альтернативно, могут быть использованы известные в данной области антитела против LAG-3. В определенных вариантах выполнения изобретения ингибиторы LAG-3 включают биспецифическое антитело против LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3 связывается с LAG-3 и PD-1.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3 представляет собой BMS-986016, включающее тяжелые и легкие цепи, содержащие последовательности, приведенные в SEQ ID NO:1 и 2 соответственно, или антигенсвязывающие фрагменты и их варианты, как описано в PCT/US13/48999.

В других вариантах выполнения изобретения антитело имеет CDR тяжелой и легкой цепи или вариабельные области BMS-986016. Соответственно, в одном варианте выполнения изобретения антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VH BMS-986016, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VL BMS-986016, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:5. В другом варианте выполнения изобретения антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие последовательности, приведенные в SEQ ID NO:7, 8 и 9 соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие последовательности, приведенные в SEQ ID NO:10 11 и 12 соответственно. В другом варианте выполнения изобретения антитело содержит области VH и/или VL, содержащие аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO:3 и/или SEQ ID NO:5 соответственно. В другом варианте выполнения изобретения антитело содержит вариабельные области (VH) тяжелой цепи и/или вариабельные области легкой

цепи (VL), кодируемые последовательностями нуклеиновой кислоты, приведенными в SEQ ID NO:4 и/или SEQ ID NO:6 соответственно. В другом варианте выполнения изобретения антитело конкурирует за связывание и/или связывается с тем же эпитопом на LAG-3, что и вышеуказанные антитела. В другом варианте выполнения изобретения антитело связывается с эпитопом LAG-3 человека, содержащим аминокислотную последовательность PGHPLAPG (SEQ ID NO:14). В другом варианте выполнения изобретения антитело связывается с эпитопом LAG-3 человека, содержащим аминокислотную последовательность HPAAPSSW (SEQ ID NO:15) или PAAPSSWG (SEQ ID NO:16).

В другом варианте выполнения изобретения антитело имеет по меньшей мере около 90% идентичности аминокислотной последовательности вариабельной области с вышеупомянутыми антителами (напр. по меньшей мере около 90%, 95% или 99% идентичности вариабельной области с SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:5).

В некоторых вариантах выполнения изобретения в терапевтических способах по изобретению могут быть использованы признанные в данной области антитела против LAG-3. Например, можно использовать антитело против LAG-3 человека, описанное в US2011/0150892 A1 и называемое моноклональным антителом 25F7 (также известным как «25F7» и «LAG-3.1»). Другие известные в данной области антитела против LAG-3, которые можно использовать, включают IMP731 (H5L7BW), описанное в US 2011/007023, MK-4280 (28G-10), описанное в WO2016028672, REGN3767, описанное в Journal for ImmunoTherapy of Cancer, (2016) Vol. 4, Supp. Supplement 1 Abstract Number: P195, BAP050, описанное в WO2017/019894, IMP-701 (LAG-525), Sym022, TSR-033, MGD013, BI754111, FS118, AVA-017 и GSK2831781. Эти и другие антитела против LAG-3, используемые в заявленном изобретении, можно найти, например, в: WO2016/028672, WO2017/106129, WO2017/062888, WO2009/044273, WO2018/069500, WO2016/126858, WO2014/179664, WO2016/200782, WO2015/200119, WO2017/019846, WO2017/198741, WO2017/220555, WO2017/220569, WO2018/071500, WO2017/015560, WO2017/025498, WO2017/087589, WO2017/087901, WO2018/083087, WO2017/149143, WO2017/219995, US2017/0260271, WO2017/086367, WO2017/086419, WO2018/034227 и WO2014/140180. В одном варианте выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой IMP321 (эфтилагимод альфа). Содержание каждой из этих ссылок включено в настоящее описание посредством ссылки во всей их полноте.

Также могут быть использованы антитела, которые конкурируют с любым из указанных выше известных в данной области антител за связывание с LAG-3.

В определенных вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3 используется для определения экспрессии LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3 выбрано по его способности связываться с LAG-3 в зафиксированных формалином и погруженных в парафин (FFPE) образцах тканей. В других вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3 способно связываться с LAG-3 в замороженных тканях. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3 способно различать мембраносвязанные, цитоплазматические и/или растворимые формы LAG-3.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против LAG-3, пригодное для анализа, обнаружения и/или количественного определения экспрессии LAG-3 в соответствии с описанными в настоящем документе способами, представляет собой 17B4 мышинное моноклональное антитело IgG1 против LAG-3 человека или его антигенсвязывающий фрагмент. См., напр., J. Matsuzaki, et al.; PNAS 107, 7875 (2010).

4. Ингибиторы пути PD-1

В одном аспекте изобретение относится к способам применения ингибитора PD-1 в лечении злокачественных опухолей. Используемый в настоящем документе термин «ингибитор пути PD-1» включает, но без ограничения, связывающие PD-1 агенты, связывающий PD-L1 агент и связывающие PD-L2 агенты. Связывающие PD-1 агенты включают антитела, которые специфически связываются с PD-1. Связывающие PD-L1 и PD-L2 агенты включают антитела, которые специфически связываются с PD-L1 и/или PD-L2, а также растворимые полипептиды PD-1, которые связываются с PD-L1 и/или PD-L2.

В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор пути PD-1 представляет собой связывающий PD-1 агент, например антитело против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор пути PD-1 представляет собой связывающий PD-L1 агент, например, антитело против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор пути PD-1 представляет собой связывающий PD-L2 агент, например антитело против PD-L2. В других вариантах выполнения изобретения связывающий PD-L1 агент представляет собой растворимый полипептид PD-1, например, слитый полипептид PD-1-Fc, способный связываться с PD-L1. В других вариантах выполнения изобретения связывающий PD-L2 агент представляет собой растворимый полипептид PD-1, например, слитый полипептид PD-1-Fc, способный связываться с PD-L2.

Антитела против PD-1 человека (или полученные из них домены VH и/или VL), подходящие для использования в изобретении, могут быть получены с использованием способов, хорошо известных в данной области. Альтернативно, могут быть использованы известные в данной области антитела против PD-1. Например, могут быть использованы моноклональные антитела 5C4 (называемые в настоящем документе Nivolumab или BMS-936558), 17D8, 2D3, 4H1, 4A11, 7D3 и 5F4, описанные в WO 2006/121168. Другие известные антитела к PD-1 включают ламбролизумаб (МК-3475), описанное в WO 2008/156712, и AMP-514, описанное в WO 2012/145493. Другие известные антитела к PD-1 и другие ингибиторы PD-1 включают описанные, например, в WO 2009/014708, WO 03/099196, WO 2009/114335 и WO 2011/161699, которые включены сюда посредством ссылки. В одном варианте выполнения изобретения антитело против PD-1 представляет собой REGN2810. В одном варианте выполнения изобретения антитело против PD-1 представляет собой PDR001. Другим известным антителом против PD-1 является пидилизумаб (СТ-011).

В одном варианте выполнения изобретения антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб. Ниволумаб (также известный как «OPDIVO®»; ранее обозначаемый 5C4, BMS-936558, MDX-1106 или ONO-4538) является полностью человеческим IgG4 (S228P) PD-1 антителом-ингибитором контрольных точек иммунного ответа, которое избирательно предотвращает взаимодействие с лигандами PD-1 (PD-L1 и PD-L2), тем самым блокируя подавление противоопухолевой функции Т-клеток (Патент США No. 8,008,449; Wang *et al.*, *Cancer Immunol Res.* 2(9):846-56 (2014)). В другом варианте выполнения изобретения антитело против PD-1 или его фрагмент перекрестно конкурирует с ниволумабом. В других вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его фрагмент связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 имеет те же CDR, что и ниволумаб.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 содержит тяжелые и легкие цепи, содержащие последовательности, приведенные в SEQ ID NO:17 и 18 соответственно, или их антигенсвязывающие фрагменты и варианты.

В других вариантах выполнения изобретения антитело имеет CDR тяжелой и легкой цепи или переменные области ниволумаба. Соответственно, в одном варианте выполнения изобретения антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 VH ниволумаба, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 VL ниволумаба, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:21. В другом варианте выполнения изобретения антитело содержит домены

CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие последовательности, приведенные в SEQ ID NO:23, 24 и 25 соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие последовательности, приведенные в SEQ ID NO:26 27 и 28 соответственно. В другом варианте выполнения изобретения антитело содержит области VH и/или VL, содержащие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO:19 и/или SEQ ID NO:21 соответственно. В другом варианте выполнения изобретения антитело содержит переменные области тяжелой цепи (VH) и/или переменные области легкой цепи (VL), кодируемые последовательностями нуклеиновой кислоты, приведенными в SEQ ID NO:20 и/или SEQ ID NO:22 соответственно. В другом варианте выполнения изобретения антитело конкурирует за связывание и/или связывается с тем же эпитопом на PD-1, что и вышеуказанные антитела. В другом варианте выполнения изобретения антитело обладает по меньшей мере около 90% идентичностью аминокислотной последовательности переменной области с вышеуказанными антителами (напр., по меньшей мере около 90%, 95% или 99% идентичностью переменной области SEQ ID NO:19 или SEQ ID NO:21).

Человеческие моноклональные антитела (HuMAbs), которые специфически связываются с PD-1 с высокой аффинностью, были раскрыты в патентах США No. 8,008,449 и 8,779,105. Другие mAb против PD-1 были описаны, например, в Патентах США Nos. 6,808,710, 7,488,802, 8,168,757 и 8,354,509, а также в Публикации PCT No. WO 2012/145493, которые включены сюда посредством ссылки. В некоторых вариантах выполнения изобретения было показано, что антитело против PD-1 проявляет одну или несколько из следующих характеристик: (a) связывается с PD-1 человека с K_D 1×10^{-7} М или менее, как определено поверхностным плазмонным резонансом с использованием биосенсорной системы Biacore; (b) практически не связывается с человеческим CD28, CTLA-4 или ICOS; (c) увеличивает пролиферацию Т-клеток в анализе Реакции Смешанных Лимфоцитов (MLR); (d) увеличивает продукцию интерферона- γ в анализе MLR; (e) увеличивает секрецию IL-2 в анализе MLR; (f) связывается с PD-1 человека и с PD-1 яванского макака; (g) ингибирует связывание PD-L1 и/или PD-L2 с PD-1; (h) стимулирует реакции антиген-специфической памяти; (i) стимулирует реакции антител; и (j) ингибирует рост опухолевых клеток *in vivo*. Антитела против PD-1, пригодные для настоящего изобретения, включают mAb, которые специфически связываются с PD-1 человека и проявляют по меньшей мере одну, по меньшей мере две, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре или по меньшей мере пять из предшествующих характеристик. Антитела против PD-1, которые проявляют одну или несколько из этих характеристик, были раскрыты в патентах США No. 8,008,449, 8,779,105, 6,808,710,

7,488,802, 8,168,757 и 8,354,509, а также в публикации PCT No. WO 2012/145493, которые включены сюда посредством ссылки. В другом варианте выполнения изобретения антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб. Пембролизумаб представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG4 (S228P), направленное против рецептора PD-1 человека на клеточной поверхности (запрограммированная смерть-1 или запрограммированная смерть-1 клетки). Пембролизумаб описан, например, в Патентах США No. 8,354,509 и 8,900,587, которые включены сюда посредством ссылки.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его фрагмент перекрестно конкурирует с пембролизумабом. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его фрагмент связывается с тем же эпитопом, что и пембролизумаб. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 имеет те же CDR, что и пембролизумаб. В другом варианте выполнения изобретения антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб. Пембролизумаб (также известный как «KEYTRUDA[®]», ламбролизумаб и МК-3475) представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG4, направленное против рецептора клеточной поверхности PD-1 человека (запрограммированная смерть-1 или запрограммированная смерть-1 клетки). Пембролизумаб описан, например, в Патентах США No. 8,354,509 и 8,900,587; см. также <http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=695789> (последний доступ: 14 декабря 2014 г.). Пембролизумаб был одобрен FDA для лечения рецидивирующей или рефрактерной меланомы.

В других вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его фрагмент перекрестно конкурирует с MEDI0608. В еще других вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его фрагмент связывается с тем же эпитопом, что и MEDI0608. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 имеет те же CDR, что и MEDI0608. В других вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 представляет собой MEDI0608 (ранее AMP-514), которое представляет собой моноклональное антитело. MEDI0608 описан, например, в патенте США No. 8,609,089B2 или по адресу <http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=756047> (последний доступ: 14 декабря 2014 г.).

В определенных вариантах выполнения изобретения первое антитело является антагонистом против PD-1. Одним из примеров антагониста против PD-1 является AMP-224, который представляет собой слитый белок Fc B7-DC. AMP-224 обсуждается в Публ. США No. 2013/0017199 или по адресу

<http://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-drug?cdrid=700595> (последний доступ: 8 июля 2015 г.).

В других вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его фрагмент перекрестно конкурирует с BGB-A317. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его фрагмент связывается с тем же эпитопом, что и BGB-A317. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 имеет те же CDR, что и BGB-A317. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 представляет собой BGB-A317, который является гуманизированным моноклональным антителом. BGB-A317 описан в Публ. США No. 2015/0079109.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело представляет собой пидилизумаб (CT-011), который представляет собой антитело, о котором ранее сообщалось, что оно связывается с PD-1, но которое, как полагают, связывается с другой мишенью. пидилизумаб описан в Пат. США No. 8,686,119 B2 или WO 2013/014668 A1.

В определенных вариантах выполнения изобретения антитела, которые вступают в перекрестную конкуренцию за связывание с PD-1 человека или связываются с одной и той же эпитопной областью PD-1 человека как ниволумаб, являются mAb. Для введения субъектам-людям эти перекрестно конкурирующие антитела могут быть химерными антителами, или гуманизированными, или человеческими антителами. Такие химерные, гуманизированные или человеческие mAb могут быть получены и выделены способами, хорошо известными в данной области.

Другие моноклональные антитела против PD-1 были описаны, например, в Патентах США No. 6,808,710, 7,488,802, 8,168,757 и 8,354,509, Публикации США No. 2016/0272708 и Публикациях PCT No. WO 2012/145493, WO 2008/156712, WO 2015/112900, WO 2012/145493, WO 2015/112800, WO 2014/206107, WO 2015/35606, WO 2015/085847, WO 2014/179664, WO 2017/020291, WO 2017/020858, WO 2016/197367, WO 2017/024515, WO 2017/025051, WO 2017/123557, WO 2016/106159, WO 2014/194302, WO 2017/040790, WO 2017/133540, WO 2017/132827, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/106061, WO 2017/19846, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825 и WO 2017/133540, каждая из которых включена посредством ссылки во всей своей полноте.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 выбрано из группы, состоящей из ниволумаба (также известного как OPDIVO®, 5C4, BMS-936558, MDX-1106 и ONO-4538), пембролизумаба (Merck; также известного как KEYTRUDA®, ламбролизумаб и MK-3475; см. WO2008/156712), PDR001 (Novartis; см. WO 2015/112900), MEDI-0680 (AstraZeneca; также известного как AMP-514; см. WO

2012/145493), цемиплимаба (Regeneron; также известного как REGN-2810; см. WO 2015/112800), JS001 (TAIZHOU JUNSHI PHARMA; см. Si-Yang Liu et al., *J. Hematol. Oncol.* 10:136 (2017)), BGB-A317 (Beigene; см. WO 2015/35606 и US 2015/0079109), INCSHR1210 (Jiangsu Hengrui Medicine; также известного как SHR-1210; см. WO 2015/085847; Si-Yang Liu et al., *J. Hematol. Oncol.* 10:136 (2017)), TSR-042 (Tesarо Biopharmaceutical; также известного как ANB011; см. WO2014/179664), GLS-010 (Wuxi/Harbin Gloria Pharmaceuticals; также известного как WBP3055; см. Si-Yang Liu et al., *J. Hematol. Oncol.* 10:136 (2017)), AM-0001 (Armo), STI-1110 (Sorrento Therapeutics; см. WO 2014/194302), AGEN2034 (Agenus; см. WO 2017/040790), MGA012 (Macrogenics, см. WO 2017/19846) и IBI308 (Innovent; см. WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825 и WO 2017/133540).

Антитела против PD-1, используемые для композиций раскрытого изобретения, также включают антигенсвязывающие части вышеуказанных антител. Было в полной мере показано, что антигенсвязывающая функция антитела может быть осуществлена фрагментами полноразмерного антитела. Примеры связывающих фрагментов, охватываемых термином «антигенсвязывающая часть» антитела, включают (i) фрагмент Fab, моновалентный фрагмент, состоящий из доменов V_L , V_H , C_L и C_{H1} ; (ii) фрагмент $F(ab')_2$, двухвалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) фрагмент Fd, состоящий из доменов V_H и C_{H1} ; и (iv) фрагмент Fv, состоящий из доменов V_L и V_H одного плеча антитела.

Антитела против PD-1, применяемые в раскрытых способах, также включают выделенные антитела, которые специфически связываются с PD-1 человека и конкурируют за связывание с PD-1 человека с любым антителом против PD-1, раскрытым в настоящем документе, напр., ниволумабом (см., напр., Патенты США No. 8,008,449 и 8,779,105; WO 2013/173223). В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и любое из антител против PD-1, описанных в настоящем документе, напр., ниволумаб. Способность антител к перекрестной конкуренции за связывание с антигеном указывает на то, что эти моноклональные антитела связываются с одной и той же эпитопной областью антигена и стерически препятствуют связыванию других перекрестно конкурирующих антител с этой конкретной эпитопной областью. Ожидается, что эти перекрестно конкурирующие антитела имеют функциональные свойства, очень похожие на свойства эталонного антитела, напр., ниволумаба, благодаря их связыванию с той же эпитопной областью PD-1. Перекрестно конкурирующие антитела могут быть легко идентифицированы на основе их способности к перекрестной конкуренции с

ниволумабом в стандартных анализах связывания PD-1, таких как анализ Biacore, анализы ELISA или проточная цитометрия (см., напр., WO 2013/173223).

Антитела против PD-1, подходящие для применения в раскрытых способах, представляют собой антитела, которые связываются с PD-1 с высокой специфичностью и аффинностью, блокируют связывание PD-L1 и/или PD-L2 и ингибируют иммуносупрессивный эффект сигнального пути PD-1. В любой из композиций или способов, раскрытых в настоящем документе, «антитело» против PD-1 включает антигенсвязывающую часть или фрагмент, который связывается с рецептором PD-1 и проявляет функциональные свойства, аналогичные свойствам целых антител, в ингибировании связывания лиганда и активизации иммунной системы. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его антигенсвязывающая часть конкурируют с ниволумабом за связывание с PD-1 человека. В других вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его антигенсвязывающая часть представляет собой химерное, гуманизированное или человеческое моноклональное антитело или его часть. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело представляет собой гуманизированное антитело. В других вариантах выполнения изобретения антитело представляет собой антитело человека. Могут быть использованы антитела изотипа IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

В определенных вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его антигенсвязывающая часть содержат константную область тяжелой цепи, которая имеет изотип IgG1 или IgG4 человека. В определенных других вариантах выполнения изобретения последовательность константной области тяжелой цепи антитела IgG4 против PD-1 или его антигенсвязывающей части содержит мутацию S228P, которая заменяет остаток серина в шарнирной области остатком пролина, обычно обнаруживаемым в соответствующем положении в антителах изотипа IgG1. Эта мутация, которая присутствует в ниволумабе, предотвращает обмен плеч Fab с эндогенными антителами IgG4, сохраняя при этом низкое сродство к активации рецепторов Fc, связанных с антителами IgG4 дикого типа (Wang et al., 2014 *Cancer Immunol Res.* 2(9):846-56). В еще других вариантах выполнения изобретения антитело содержит константную область легкой цепи, которая представляет собой константную область человека каппа или лямбда. В других вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 или его антигенсвязывающая часть представляет собой mAb или его антигенсвязывающую часть. В определенных вариантах выполнения любого из терапевтических способов, описанных в настоящем документе, включающих введение антитела против PD-1, антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб. В других

вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб. В других вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 выбрано из антител человека 17D8, 2D3, 4H1, 4A11, 7D3 и 5F4, описанных в Патенте США No. 8,008,449. В еще других вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 представляет собой MEDI0608 (ранее AMP-514), AMP-224 или BGB-A317.

В вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 представляет собой биспецифическое антитело. В вариантах выполнения изобретения антитело против PD-1 представляет собой биспецифическое антитело, которое связывает как PD-1, так и LAG-3.

5. Антитела Против PD-L1

В определенных вариантах выполнения изобретения настоящая заявка охватывает применение антитела против PD-L1 в качестве ингибитора пути PD-1. В одном варианте выполнения изобретения антитело против PD-L1 ингибирует связывание рецептора PD-L1, т.е. PD-1, с его лигандом PD-L1.

Антитела против PD-L1 человека (или полученные из них домены VH и/или VL), подходящие для использования в изобретении, могут быть получены с использованием способов, хорошо известных в данной области. Альтернативно, можно использовать известные в данной области антитела против PD-L1. Например, могут быть использованы антитела против PD-L1 человека, раскрытые в Пат. США No. 7,943,743. Такие антитела против PD-L1 включают 3G10, 12A4 (также называемое BMS-936559), 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7 и 13G4. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-L1 представляет собой атезолизумаб (Tecentriq или RG7446) (см., напр., Herbst et al. (2013) J Clin Oncol 31(suppl):3000. Реферат; Патент США No. 8,217,149), дурвалумаб (Imfinzi или MEDI4736) (Khleif (2013) In: Proceedings from the European Cancer Congress 2013; September 27-October 1, 2013; Amsterdam, The Netherlands. Abstract 802), авелумаб (Bavencio). Другие известные в данной области антитела против PD-L1, которые можно использовать, включают те, которые описаны, например, в Патентах США No. 7,635,757 и 8,217,149, Публикации США No. 2009/0317368 и Публикациях PCT No. WO 2011/066389 and WO 2012/145493, которые включены в настоящий документ посредством ссылки. Также могут быть использованы антитела, которые конкурируют с любым из этих известных в данной области антител или ингибиторов за связывание с PD-L1. Примеры антител против PD-L1, пригодных в способах по настоящему изобретению, включают антитела, раскрытые в Патенте США No. 9,580,507. Было продемонстрировано, что моноклональные антитела против PD-L1

человека, раскрытые в Патенте США No. 9,580,507, проявляют одну или несколько из следующих характеристик: (a) связываются с PD-L1 человека с $KD 1 \times 10^{-7}$ М или менее, как определено поверхностным плазмонным резонансом с использованием биосенсорной системы Biacore; (b) увеличивают пролиферацию Т-клеток в анализе Реакции Смешанных Лимфоцитов (MLR); (c) увеличивают продукцию интерферона- γ в анализе MLR; (d) увеличивают секрецию IL-2 в анализе MLR; (e) стимулируют ответ антител; и (f) обращают эффект Т-регуляторных клеток на Т-клеточные эффекторные клетки и/или дендритные клетки. Антитела против PD-L1, применяемые в настоящем изобретении, включают моноклональные антитела, которые специфически связываются с PD-L1 человека и проявляют по меньшей мере одну, в некоторых вариантах выполнения изобретения по меньшей мере пять из вышеуказанных характеристик.

В определенных вариантах выполнения изобретения антитело против PD-L1 представляет собой BMS-936559 (ранее 12A4 или MDX-1105) (см., напр., Патент США No. 7,943,743; WO 2013/173223). В других вариантах выполнения изобретения антитело против PD-L1 представляет собой MPDL3280A (также известное как RG7446 и атезолизумаб) (см., напр., Herbst et al. 2013 J Clin Oncol 31(suppl):3000; U.S. Patent No. 8,217,149), MEDI4736 (Khleif, 2013, In: Proceedings from the European Cancer Congress 2013; September 27-October 1, 2013; Amsterdam, The Netherlands. Abstract 802) или MSB0010718C (также называемый Авелумаб; см. US 2014/0341917). В определенных вариантах выполнения изобретения антитела, которые вступают в перекрестную конкуренцию за связывание с PD-L1 человека или связываются с той же эпитопной областью PD-L1 человека, что и указанные выше по ссылке антитела против PD-L1, представляют собой mAb. Для введения субъектам-людям эти перекрестно конкурирующие антитела могут быть химерными антителами, или могут быть гуманизированными, или человеческими антителами. Такие химерные, гуманизированные или человеческие mAb могут быть получены и выделены способами, хорошо известными в данной области. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело против PD-L1 выбрано из группы, состоящей из BMS-936559 (также известного как 12A4, MDX-1105; см., напр., Патент США No. 7,943,743 и WO 2013/173223), атезолизумаба (Roche, также известного как TECENTRIQ®; MPDL3280A, RG7446; см. US 8,217,149; см. также Herbst et al. (2013) J Clin Oncol 31(suppl):3000), дурвалумаба (AstraZeneca; также известного как IMFINZI™, MEDI-4736; см. WO 2011/066389), авелумаба (Pfizer; также известного как BAVENCIO®, MSB-0010718C; см. WO 2013/079174), STI-1014 (Sorrento; см. WO2013/181634), CX-072 (Cytomx; см. WO2016/149201), KN035 (3D Med/Alphamab; см. Zhang et al., Cell Discov. 7:3 (March

2017), LY3300054 (Eli Lilly Co.; см., напр., WO 2017/034916) и CK-301 (Checkpoint Therapeutics; см. Gorelik et al., AACR:Реферат 4606 (Apr 2016)).

В определенных вариантах выполнения изобретения антитело против PD-L1 представляет собой атезолизумаб (TECENTRIQ®). Атезолизумаб является полностью гуманизированным моноклональным антителом IgG1 против PD-L1.

В определенных вариантах выполнения изобретения антитело против PD-L1 представляет собой дурвалумаб (IMFINZI™). Дурвалумаб является человеческим моноклональным каппа-антителом IgG1 против PD-L1.

В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-L1 представляет собой авелумаб (BAVENCIO®). Авелумаб представляет собой человеческое лямбда моноклональное антитело IgG1 против PD-L1.

В других вариантах выполнения изобретения моноклональное антитело против PD-L1 выбрано из группы, состоящей из 28-8, 28-1, 28-12, 29-8, 5H1 и любой их комбинации.

Антитела против PD-L1, применяемые в раскрытых способах, также включают выделенные антитела, которые специфически связываются с PD-L1 человека и конкурируют за связывание с PD-L1 человека с любым антителом против PD-L1, раскрытым в настоящем документе, напр., атезолизумабом, дурвалумабом и/или авелумабом. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против PD-L1 связывается с тем же эпитопом, что и любое из антител против PD-L1, описанных в настоящем документе, напр., атезолизумаб, дурвалумаб и/или авелумаб. Способность антител к перекрестной конкуренции за связывание с антигеном указывает на то, что эти антитела связываются с одной и той же эпитопной областью антигена и стерически препятствуют связыванию других перекрестно конкурирующих антител с этой конкретной эпитопной областью. Ожидается, что эти перекрестно конкурирующие антитела имеют функциональные свойства, очень похожие на свойства эталонного антитела, напр., атезолизумаба и/или авелумаба, благодаря их связыванию с той же эпитопной областью PD-L1. Кросс-конкурирующие антитела могут быть легко идентифицированы на основе их способности к перекрестной конкуренции с атезолизумабом и/или авелумабом в стандартных анализах связывания PD-1, таких как анализ Biacore, анализы ELISA или проточная цитометрия (см., напр., WO 2013/173223).

В определенных вариантах выполнения изобретения антитела, которые конкурируют за связывание с PD-L1 человека или связываются с той же эпитопной областью антитела против PD-L1 человека, что и атезолизумаб, и дурвалумаб и/или авелумаб, являются моноклональными антителами. Для введения субъектам-людям эти

перекрестно конкурирующие антитела представляют собой химерные антитела, сконструированные антитела, или гуманизированные антитела, или человеческие антитела. Такие химерные, сконструированные, гуманизированные или человеческие моноклональные антитела могут быть получены и выделены способами, хорошо известными в данной области.

Антитела против PD-L1, применяемые в способах раскрытого изобретения, также включают антигенсвязывающие части вышеуказанных антител. Было показано, что антигенсвязывающая функция антитела может быть осуществлена фрагментами полноразмерного антитела.

Антитела против PD-L1, подходящие для применения в раскрытых способах или композициях, представляют собой антитела, которые связываются с PD-L1 с высокой специфичностью и аффинностью, блокируют связывание PD-1 и ингибируют иммуносупрессивный эффект сигнального пути PD-1. В любой из композиций или в любом из способов, раскрытых в настоящем документе, «антитело» против PD-L1 включает антигенсвязывающую часть или фрагмент, который связывается с PD-L1 и проявляет функциональные свойства, аналогичные свойствам целых антител в ингибировании связывания рецептора и активизации иммунной системы. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело против PD-L1 или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурирует с атезолизумабом, дурвалумабом и/или авелумабом за связывание с PD-L1 человека.

Антитела против PD-L1, пригодные для изобретения, включают антитела, сконструированные на основе антител, имеющих одну или несколько последовательностей V_H и/или V_L , раскрытых в настоящем документе, причем эти сконструированные антитела могут иметь измененные свойства по сравнению с исходными антителами. Антитело против PD-L1 может быть сконструировано посредством различных модификаций, как описано выше для конструирования модифицированных антител против PD-1 по изобретению.

6. Антитела Против CTLA-4

В определенных вариантах выполнения изобретения настоящая заявка охватывает применение антитела против CTLA-4. В одном варианте выполнения изобретения антитело против CTLA-4 связывает и ингибирует CTLA-4. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против CTLA-4 представляет собой ипилимумаб (YERVOY), тремелидумаб (тицилимумаб; CP-675,206), AGEN-1884 или ATOR-1015.

7. Ингибиторы Контрольных Точек Иммунного Ответа

В одном аспекте изобретение относится к способам применения ингибитора PD-1 в комбинации с ингибитором контрольных точек иммунного ответа при лечении злокачественных опухолей. Можно использовать любой известный в данной области ингибитор контрольных точек иммунного ответа.

В определенных вариантах выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист CTLA-4, антагонист CD80, антагонист CD86, антагонист Tim-3, антагонист TIGIT, антагонист CD20, антагонист CD96, антагонист IDO1, антагонист STING, антагонист STING, антагонист GARP, антагонист CD40, антагонист A2aR, антагонист CEACAM1 (CD66a), антагонист CEA, антагонист CD47, антагонист PVRIG, антагонист TDO, антагонист VISTA или антагонист KIR.

В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист CTLA-4. В определенных вариантах выполнения изобретения антагонист CTLA-4 представляет собой антитело против CTLA-4 или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против CTLA-4 представляет собой ипилимумаб (YERVOY), тремелиумаб (тицилиумаб; CP-675,206), AGEN-1884 или ATOR-1015.

В одном варианте выполнения изобретения антагонист CTLA-4 представляет собой растворимый полипептид CTLA-4. В одном варианте выполнения изобретения растворимый полипептид CTLA-4 представляет собой абатацепт (Orencia), белатацепт (Nulojix), RG2077 или RG-1046. В другом варианте выполнения изобретения антагонист CTLA-4 представляет собой клеточную терапию. В некоторых вариантах выполнения изобретения антагонист CTLA-4 представляет собой анти-CTLA-4 mAb RNA/GITRL РНК-трансфицированную аутологичную дендритную клеточную вакцину или анти-CTLA-4 mAb РНК-трансфицированную аутологичную дендритную клеточную вакцину.

В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист KIR. В определенных вариантах выполнения изобретения антагонист KIR представляет собой антитело против KIR или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против KIR представляет собой лирилумаб (1-7F9, BMS-986015, IPH 2101) или IPH4102.

В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист TIGIT. В одном варианте выполнения

изобретения антагонист TIGIT представляет собой антитело против TIGIT или его антигенсвязывающий фрагмент. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело против TIGIT представляет собой BMS-986207, AB 154, COM902 (CGEN-15137) или OMP-313M32.

В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист Tim-3. В определенных вариантах выполнения изобретения антагонист Tim-3 представляет собой антитело против Tim-3 или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против Tim-3 представляет собой TSR-022 или LY3321367.

В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист IDO1. В другом варианте выполнения изобретения антагонист IDO1 представляет собой индоксимод (NLG8189; 1-метил-D-TRP), эпакадостат (INCB-024360, INCB-24360), КНК2455, PF-06840003, навоксимод (RG6078, GDC-0919, NLG919), BMS-986205 (F001287) или производные пирролидин-2,5-диона.

В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист STING. В определенных вариантах выполнения изобретения антагонист STING представляет собой 2' или 3'-монофторзамещенные циклические динуклеотиды; 2'3'-дифторзамещенные смешанносвязанные 2',5'-3',5'- циклические динуклеотиды; 2'-фторзамещенные, бис-3',5'-циклические динуклеотиды; 2',2"-диF-Rp,Rp,бис-3',5'-циклические динуклеотиды; или фторированные циклические динуклеотиды.

В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист CD20. В некоторых вариантах выполнения изобретения антагонист CD20 представляет собой антитело против CD20 или его антигенсвязывающий фрагмент. В одном варианте выполнения изобретения антитело против CD20 представляет собой ритуксимаб (RITUXAN; IDEC-102; IDEC-C2B8), ABP 798, офатумумаб или обинутузумаб.

В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист CD80. В определенных вариантах выполнения изобретения антагонист CD80 представляет собой антитело против CD80 или его антигенсвязывающий фрагмент. В одном варианте выполнения изобретения антитело против CD80 представляет собой галиксимаб или AV 1142742.

В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист GARP. В некоторых вариантах

выполнения изобретения антагонист GARP представляет собой антитело против GARP или его антигенсвязывающий фрагмент. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело против GARP представляет собой ARGX-115.

В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист CD40. В определенных вариантах выполнения изобретения антагонист CD40 представляет собой антитело против CD40 к его антигенсвязывающему фрагменту. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело против CD40 представляет собой BMS3h-56, люкатумумаб (HCD122 и CHIR-12.12), CHIR-5.9 или дацетузумаб (huS2C6, PRO 64553, RG 3636, SGN 14, SGN-40). В другом варианте выполнения изобретения антагонист CD40 представляет собой растворимый лиганд CD40 (CD40-L). В одном варианте выполнения изобретения растворимый лиганд CD40 представляет собой слитый полипептид. В одном варианте выполнения изобретения растворимый лиганд CD40 представляет собой CD40-L/FC2 или мономерный CD40-L.

В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист A2aR. В некоторых вариантах выполнения изобретения антагонист A2aR представляет собой малую молекулу. В определенных вариантах выполнения изобретения антагонист A2aR представляет собой CPI-444, PBF-509, истрадефиллин (KW-6002), преладенант (SCH420814), тозаденант (SYN115), випаденант (BIB014), HTL-1071, ST1535, SCH412348, SCH442416, SCH58261, ZM241385 или AZD4635.

В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист CEACAM1. В некоторых вариантах выполнения изобретения антагонист CEACAM1 представляет собой антитело против CEACAM1 или его антигенсвязывающий фрагмент. В одном варианте выполнения изобретения антитело против CEACAM1 представляет собой CM-24 (MK-6018).

В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист CEA. В одном варианте выполнения изобретения антагонист CEA представляет собой антитело против CEA или его антигенсвязывающий фрагмент. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело против CEA представляет собой цергутузумаб, амуналейкин (RG7813, RO-6895882) или RG7802 (RO6958688).

В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист CD47. В некоторых вариантах выполнения изобретения антагонист CD47 представляет собой антитело против CD47

или его антигенсвязывающий фрагмент. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело против CD47 представляет собой HuF9-G4, CC-90002, TTI-621, ALX148, NI-1701, NI-1801, SRF231 или Effi-DEM.

В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист PVRIG. В определенных вариантах выполнения изобретения антагонист PVRIG представляет собой антитело против PVRIG или его антигенсвязывающий фрагмент. В одном варианте выполнения изобретения антитело против PVRIG представляет собой COM701 (CGEN-15029).

В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист TDO. В одном варианте выполнения изобретения антагонист TDO представляет собой производное 4-(индол-3-ил)пиразола, производное, замещенное 3-индолом, или производное 3-(индол-3-ил)пиридина. В другом варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой двойной антагонист IDO и TDO. В одном варианте выполнения изобретения двойной антагонист IDO и TDO представляет собой малую молекулу.

В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист VISTA. В некоторых вариантах выполнения изобретения антагонист VISTA представляет собой CA-170 или JNJ-61610588.

8. Фармацевтические Композиции

Фармацевтические композиции, пригодные для введения пациентам-людям, обычно составляют для парентерального введения, напр., в жидком носителе, или подходящими для разведения в жидкий раствор или суспензию для внутривенного введения.

Как правило, такие композиции обычно содержат фармацевтически приемлемый носитель. Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемый» означает одобренный государственным регулирующим органом или указанный в Фармакопее США или другой общепризнанной фармакопее для применения на животных, в частности, на людях. Термин «носитель» относится к разбавителю, адъюванту, эксципиенту или наполнителю, с которым вводят соединение. Такими фармацевтическими носителями могут быть стерильные жидкости, такие как вода и масла, включая масла нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло,

кунжутное масло, глицерин полиэтиленгликоль рицинолеат и тому подобное. В качестве носителей могут быть использованы вода или водный солевой раствор и водные растворы декстрозы и глицерина, в частности, для инъектируемых растворов (напр., содержащих антитело против LAG-3 и/или против PD-1). Жидкие композиции для парентерального введения могут быть составлены для введения путем инъекции или непрерывной инфузии. Пути введения путем инъекции или инфузии включают внутривенный, внутривентрикулярный, внутримышечный, интратекальный и подкожный. В одном варианте выполнения изобретения антитела против LAG-3 и/или против PD-1 вводят внутривенно (напр., в отдельных составах или вместе (в одном и том же составе или в отдельных составах)).

9. Популяции Пациентов

Настоящее изобретение относится к клиническим способам лечения злокачественных опухолей (напр., распространенных рефрактерных солидных опухолей и гематологических злокачественных новообразований) у пациентов-людей с использованием иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе, например, ингибитора LAG-3 (напр., антитела против LAG-3), ингибитора пути PD-1 (напр., антитела против PD-1), антитела против CTLA-4 или комбинации ингибитора LAG-3 (напр., антитела против LAG-3) и ингибитора пути PD-1 (напр., антитела против PD-1).

Примеры раковых и/или злокачественных опухолей, которые можно лечить с использованием способов по изобретению, включают рак печени, гепатоцеллюлярную карциному (HCC), рак кости, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак ротовой полости, рак головы или шеи, рак молочной железы, рак легких, мелкоклеточный рак легких, NSCLC, кожную или внутриглазную злокачественную меланому, рак почки, рак матки, рак яичников, колоректальный рак, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак анальной области, рак желудка, рак яичка, рак матки, карциному маточных труб, карциному эндометрия, карциному шейки матки, карциному влагалища, карциному вульвы, плоскоклеточный рак головы и шеи (SCCHN), неходжкинскую лимфому, рак пищевода, рак тонкой кишки, рак эндокринной системы, рак щитовидной железы, рак околощитовидной железы, рак надпочечников, саркому мягких тканей, рак мочеиспускательного канала, рак полового члена, солидные опухоли детского возраста, лимфоцитарную лимфому, рак мочевого пузыря, рак почки или мочеточника, рак почечной лоханки, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), первичную лимфому ЦНС, опухолевый ангиогенез, опухоль позвоночника, глиому ствола головного мозга, аденому гипофиза, саркому Капоши, эпидермоидный рак, плоскоклеточный рак,

рак, вызванный окружающей средой, включая рак, вызванный асбестом, гематологические злокачественные новообразования, включая, например, множественную миелому, В-клеточную лимфому, лимфому Ходжкина/первичную средостенную В-клеточную лимфому, неходжкинские лимфомы, острую миелоидную лимфому, хронический миелогенный лейкоз, хронический лимфолейкоз, фолликулярную лимфому, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, лимфому Беркитта, иммунобластную крупноклеточную лимфому, предшественника В-лимфобластной лимфомы, лимфому мантийных клеток, острый лимфоцитарный лейкоз, фунгоидный микоз, анапластическую крупноклеточную лимфому, Т-клеточную лимфому и предшественника Т-лимфобластной лимфомы и любые комбинации указанных видов рака. Настоящее изобретение также применимо для лечения метастатического рака. В вариантах выполнения изобретения рак представляет собой карциному клеток почки (RCC), карциному желудка/гастроэзофагеального перехода, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), меланому, плоскоклеточную карциному головы и шеи (SCCHN), гепатоцеллюлярную карциному или уротелиальную карциному.

В определенных вариантах выполнения изобретения меланома является неоперабельной или метастатической меланомой. В вариантах выполнения изобретения пациент ранее лечился антителом против PD-1 или против PD-L1. В определенных вариантах выполнения изобретения опухоль представляет собой опухоль, экспрессирующую LAG-3. В конкретных вариантах выполнения изобретения опухоль представляет собой опухоль, экспрессирующую LAG-3, с экспрессией $LAG-3 \geq 1\%$.

В одном варианте выполнения изобретения пациент-человек имеет неоперабельную метастатическую меланому и ранее лечился ингибитором метастаз против PD-1 или против PD-L1. В конкретном варианте выполнения изобретения пациент-человек имеет неоперабельную метастатическую меланому и ранее лечился ингибитором метастаз против PD-1 или против PD-L1, и опухоль представляет собой опухоль, экспрессирующую LAG-3. В одном варианте выполнения изобретения пациент-человек имеет неоперабельную метастатическую меланому и ранее лечился ингибитором метастаз против PD-1 или против PD-L1, и опухоль представляет собой опухоль, экспрессирующую LAG-3. В определенном варианте выполнения изобретения пациент-человек имеет неоперабельную метастатическую меланому и ранее лечился ингибитором метастаз против PD-1 или против PD-L1, и опухоль представляет собой опухоль, экспрессирующую LAG-3, с экспрессией $LAG-3 \geq 1\%$.

В одном варианте выполнения изобретения пациент-человек имеет злокачественную опухоль, которая не поддается лечению с помощью ингибитора контрольных точек иммунного ответа. В другом варианте выполнения изобретения пациент имеет злокачественную опухоль, которая не поддается лечению ингибитором PD-1. В другом варианте выполнения изобретения пациент имеет злокачественную опухоль, которая не поддается лечению антителом против PD-1. В другом варианте выполнения изобретения пациент имеет злокачественную опухоль, которая не поддается лечению антителом против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой рак желудка, рак почки, HCC, SCCHN или NSCLC.

В одном варианте выполнения изобретения пациент-человек имеет меланому. В другом варианте выполнения изобретения пациент имеет меланому, которая не поддается лечению ингибитором контрольных точек иммунного ответа. В другом варианте выполнения изобретения пациент имеет меланому, которая не поддается лечению ингибитором PD-1. В другом варианте выполнения изобретения пациент имеет меланому, которая не поддается лечению антителом против PD-1. В другом варианте выполнения изобретения пациент имеет меланому, которая не поддается лечению антителом против PD-L1.

В одном варианте выполнения изобретения пациент-человек страдает меланомой, раком желудка, раком почки, HCC, SCCHN или NSCLC. В одном варианте выполнения изобретения пациент-человек имеет меланому.

В одном варианте выполнения изобретения пациент-человек имеет NSCLC или рак, связанный с вирусом (напр., опухоль, связанную с вирусом папилломы человека (HPV)), или аденокарциному желудка. В конкретном варианте выполнения изобретения опухоль, связанная с HPV, представляет собой HPV+ рак головы и шеи (HNC). В другом конкретном варианте выполнения изобретения аденокарцинома желудка связана с инфицированием вирусом Эпштейна-Барра (EBV).

Пациенты могут быть протестированы или отобраны по одному или нескольким из вышеописанных клинических признаков до, во время или после лечения.

В соответствии со способами, описанными в настоящем документе, злокачественные опухоли можно тестировать для определения экспрессии LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественные опухоли, которые лечат в соответствии со способами, раскрытыми в настоящем документе, представляют собой положительные по LAG-3 опухоли. В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 меланому. В

другом варианте выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой положительный по LAG-3 рак желудка, рак почки, HCC, SCCHN или NSCLC.

В некоторых вариантах выполнения изобретения по меньшей мере около 0,5%, по меньшей мере около 0,75%, по меньшей мере около 1%, по меньшей мере около 1,25%, по меньшей мере около 1,5%, по меньшей мере около 1,75%, по меньшей мере около 2%, по меньшей мере около 3%, клеток от общего количества клеток в положительной по LAG-3 опухоли меланомы экспрессируют LAG-3.

В некоторых вариантах выполнения изобретения по меньшей мере около 0,5%, по меньшей мере около 1%, по меньшей мере около 2%, по меньшей мере около 3%, по меньшей мере около 4%, по меньшей мере около 5%, по меньшей мере около 6%, по меньшей мере около 7%, по меньшей мере около 8%, по меньшей мере около 9%, по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25% или по меньшей мере около 30% от общего количества клеток злокачественной опухоли экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой меланому, рак желудка, рак почки, HCC, SCCHN или NSCLC.

В соответствии со способами, описанными в настоящем документе, злокачественные опухоли можно тестировать для определения экспрессии LAG-3 и PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественные опухоли, которые лечат в соответствии с раскрытыми в настоящем документе способами, представляют собой положительные по LAG-3 положительные по PD-L1 опухоли. В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 меланому. В другом варианте выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой положительный по LAG-3 положительный по PD-L1 рак желудка, рак почки, HCC, SCCHN или NSCLC.

В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественные опухоли, которые лечат в соответствии с раскрытыми в настоящем документе способами, представляют собой положительные по LAG-3 отрицательные по PD-L1 опухоли. В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 меланому. В другом варианте выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой положительный по LAG-3 отрицательный по PD-L1 рак желудка, рак почки, HCC, SCCHN или NSCLC.

10. Иммунотерапии

В одном аспекте изобретения иммунотерапии по настоящему изобретению включают введение ингибитора LAG-3 (напр., антитела против LAG-3) и другого антитела, которое блокирует ингибиторный иммунный рецептор (напр., рецептор, который при связывании с его природным лигандом ингибирует/нейтрализует активность, такую как цитотоксическая активность), в частности, антитела против PD-1 или антитела против PD-L1 для лечения субъектов, имеющих злокачественные опухоли (напр., распространенные рефрактерные солидные опухоли или гематологические злокачественные новообразования). В другом аспекте изобретения иммунотерапии по настоящему изобретению включают введение антитела против PD-1 или антитела против PD-L1 для лечения субъектов, имеющих злокачественные опухоли (напр., распространенные рефрактерные солидные опухоли или гематологические злокачественные новообразования). В другом аспекте изобретения иммунотерапии по настоящему изобретению включают введение антитела против CTLA-4 для лечения субъектов, имеющих злокачественные опухоли (напр., распространенные рефрактерные солидные опухоли или гематологические злокачественные новообразования).

В одном варианте выполнения изобретение относится к антителу против LAG-3 и антителу против PD-1 в комбинации в соответствии с определенной схемой клинической дозировки для лечения субъектов, имеющих злокачественную опухоль (напр., распространенную рефрактерную солидную опухоль). В конкретном варианте выполнения изобретения антитело против LAG-3 представляет собой BMS-986016. В другом варианте выполнения изобретения антитело против PD-1 представляет собой BMS-936558. В другом варианте выполнения изобретения схемы дозирования корректируют для обеспечения оптимального желаемого ответа (напр., эффективного ответа).

В другом варианте выполнения изобретение относится к антителу против LAG-3 и антителу против PD-L1 в комбинации в соответствии с определенной схемой клинической дозировки для лечения субъектов, имеющих злокачественную опухоль (напр., распространенную рефрактерную солидную опухоль). В конкретном варианте выполнения изобретения антитело против LAG-3 представляет собой BMS-986016. В другом варианте выполнения изобретения антитело против PD-L1 представляет собой BMS-936559. В другом варианте выполнения изобретения схемы дозирования корректируют для обеспечения оптимального желаемого ответа (напр., эффективного ответа).

В другом аспекте изобретение относится к антителу против LAG-3 в соответствии с определенной схемой клинической дозировки для лечения субъектов, имеющих

злокачественную опухоль (напр., распространенную рефрактерную солидную опухоль). В конкретном варианте выполнения изобретения антитело против LAG-3 представляет собой BMS-986016. В другом варианте выполнения изобретения схемы дозирования корректируют для обеспечения оптимального желаемого ответа (напр., эффективного ответа).

В другом аспекте изобретение относится к антителу против PD-1 в соответствии с определенной схемой клинической дозировки для лечения субъектов, имеющих злокачественную опухоль (напр., распространенную рефрактерную солидную опухоль). В конкретном варианте выполнения изобретения антитело против PD-1 представляет собой BMS-936558. В другом варианте выполнения изобретения схемы дозирования корректируют для обеспечения оптимального желаемого ответа (напр., эффективного ответа).

В другом аспекте изобретение относится к антителу против PD-L1 в соответствии с определенной схемой клинической дозировки для лечения субъектов, имеющих злокачественную опухоль (напр., распространенную рефрактерную солидную опухоль). В конкретном варианте выполнения изобретения антитело против PD-L1 представляет собой BMS-936559. В другом варианте выполнения изобретения схемы дозирования корректируют для обеспечения оптимального желаемого ответа (напр., эффективного ответа).

В другом аспекте изобретение относится к антителу против CTLA-4 в соответствии с определенной схемой клинической дозировки для лечения субъектов, имеющих злокачественную опухоль (напр., распространенную рефрактерную солидную опухоль). В конкретном варианте выполнения изобретения антитело против CTLA4 представляет собой ипилимумаб (YERVOY). В конкретном варианте выполнения изобретения антитело против CTLA4 представляет собой тремелиумаб (тицилиумаб; CP-675,206), AGEN-1884 или ATOR-1015. В другом варианте выполнения изобретения схемы дозирования корректируют для обеспечения оптимального желаемого ответа (напр., эффективного ответа).

В другом аспекте иммунотерапии по настоящему изобретению включают введение антитела против PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа для лечения субъектов, имеющих злокачественные опухоли (напр., распространенные рефрактерные солидные опухоли или гематологические злокачественные новообразования). В одном варианте выполнения изобретения антитело против PD-1 представляет собой BMS-936558. В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист CTLA-4,

антагонист CD80, антагонист CD86, антагонист Tim-3, антагонист TIGIT, антагонист CD20, антагонист CD96, антагонист IDO1, антагонист STING, антагонист GARP, антагонист CD40, антагонист A2aR, антагонист CEACAM1 (CD66a), антагонист CEA, антагонист CD47, антагонист PVRIG, антагонист TDO, антагонист VISTA или антагонист KIR.

В другом аспекте иммунотерапии по настоящему документу включают введение антитела против PD-L1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа для лечения субъектов, имеющих злокачественные опухоли (напр., распространенные рефрактерные солидные опухоли или гематологические злокачественные новообразования). В одном варианте выполнения изобретения антитело против PD-L1 представляет собой BMS-936559. В одном варианте выполнения изобретения ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист CTLA-4, антагонист CD80, антагонист CD86, антагонист Tim-3, антагонист TIGIT, антагонист CD20, антагонист CD96, антагонист IDO1, антагонист STING, антагонист GARP, антагонист CD40, антагонист A2aR, антагонист CEACAM1 (CD66a), антагонист CEA, антагонист CD47, антагонист PVRIG, антагонист TDO, антагонист VISTA или антагонист KIR.

Как используется в настоящем документе, вспомогательное или комбинированное введение (совместное введение) включает одновременное введение соединений в одной или разных дозированных формах или раздельное введение соединений (напр., последовательное введение). Так, например, антитела против LAG-3 и против PD-1 можно вводить одновременно в одной композиции. Альтернативно, антитела против LAG-3 и против PD-1 могут быть составлены для раздельного введения и вводятся одновременно или последовательно (напр., одно антитело вводится за около 30 минут до введения второго антитела).

Например, антитело против PD-1 может быть введено вначале с последующим (напр., сразу после) введением антитела против LAG-3 или наоборот. В одном варианте выполнения изобретения антитело против PD-1 вводят перед введением антитела против LAG-3. В другом варианте выполнения изобретения антитело против PD-1 вводят после введения антитела против LAG-3. В другом варианте выполнения изобретения антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят одновременно. Такое одновременное или последовательное введение предпочтительно приводит к тому, что оба антитела одновременно присутствуют у пациентов, которым их ввели.

11. Протоколы Лечения

В одном аспекте изобретения подходящие протоколы лечения для лечения злокачественной опухоли у пациента-человека включают введение пациенту эффективного количества ингибитора LAG3 (напр., антитела против LAG-3).

В некоторых вариантах выполнения изобретения подходящий протокол лечения для лечения злокачественной опухоли у пациента-человека включает, например, введение пациенту эффективного количества антитела против LAG-3, такого как антитело, содержащее домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:5,

где способ включает по меньшей мере один цикл введения, при этом цикл составляет период в восемь недель, причем для каждого из по меньшей мере одного цикла по меньшей мере четыре дозы антитела против LAG-3 вводят в дозе, не требующей перерасчёта, исходя из площади поверхности тела или веса, составляющей около 1, 3, 10, 20, 50, 80, 100, 130, 150, 16, 180, 200, 240 или 280 мг. В другом варианте выполнения изобретения четыре дозы антитела против LAG-3 вводят в дозе 0,01, 0,03, 0,25, 0,1, 0,3, 1 или 3, 5, 8 или 10 мг/кг массы тела.

В одном аспекте изобретения подходящие протоколы лечения для лечения злокачественной опухоли у пациента-человека включают введение пациенту эффективного количества ингибитора пути PD1 (напр., антитела против PD1).

В некоторых вариантах выполнения изобретения подходящий протокол лечения для лечения злокачественной опухоли у пациента-человека включает, например, введение пациенту эффективного количества антитела против PD-1, такого как антитело, содержащее домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:21, где способ включает по меньшей мере один цикл введения, где цикл представляет собой период в восемь недель, где для каждого из по меньшей мере одного цикла по меньшей мере четыре дозы антитела против PD-1 вводят в дозе, не требующей перерасчёта, исходя из площади поверхности тела или веса, около 50, 80, 100, 130, 150, 180, 200, 240 или 280 мг. В другом варианте выполнения изобретения четыре дозы антитела против PD-1 вводят в дозе 0,1, 0,3, 1, 3, 5, 8 или 10 мг/кг массы тела.

В одном аспекте изобретения подходящие протоколы лечения для лечения злокачественной опухоли у пациента-человека включают введение пациенту эффективного количества антитела против CTLA-4.

В некоторых вариантах выполнения изобретения подходящий протокол лечения для лечения злокачественной опухоли у пациента-человека включает, например, введение пациенту эффективного количества антитела против CTLA-4, где способ включает по меньшей мере один цикл введения, где цикл представляет собой период в восемь недель, в котором для каждого из по меньшей мере одного цикла по меньшей мере четыре дозы антитела против CTLA-4 вводят в дозе, не требующей перерасчёта, исходя из площади поверхности тела или веса, около 50, 80, 100, 130, 150, 180, 200, 240 или 280 мг. В другом варианте выполнения изобретения четыре дозы антитела против CTLA-4 вводят в дозе 0,1, 0,3, 1, 3, 5, 8 или 10 мг/кг массы тела.

В одном аспекте изобретения подходящие протоколы лечения для лечения злокачественной опухоли у пациента-человека включают введение пациенту эффективного количества каждого из ингибитора LAG3 (напр., антитела против LAG-3) и ингибитора пути PD-1 (напр., антитела против PD-1).

В некоторых вариантах выполнения изобретения подходящий протокол лечения для лечения злокачественной опухоли у пациента-человека включает, например, введение пациенту эффективного количества каждого из:

(a) антитела против LAG-3, такого как антитела, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи вариабельная область, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:5,

(b) антитела против PD-1, такого как антитела, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:21,

где способ включает по меньшей мере один цикл введения, где цикл составляет период в восемь недель, причем для каждого из по меньшей мере одного цикла по меньшей мере четыре дозы антитела против LAG-3 вводят в дозе, не требующей перерасчёта, исходя из площади поверхности тела или веса, составляющей около 1, 3, 10, 20, 50, 80, 100, 130, 150, 16, 180, 200, 240 или 280 мг и по меньшей мере четыре дозы антитела против PD-1 вводят в дозе, не требующей перерасчёта, исходя из площади поверхности тела или веса, около 50, 80, 100, 130, 150, 180, 200, 240 или 280 мг. В другом варианте выполнения изобретения четыре дозы антитела против LAG-3 вводят в дозе 0,01, 0,03, 0,25, 0,1, 0,3, 1 или 3, 5, 8 или 10 мг/кг массы тела и четыре дозы антитела против PD-1 вводят в дозе 0,1, 0,3, 1, 3, 5, 8 или 10 мг/кг массы тела.

В одном варианте выполнения изобретения антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в следующих дозах:

- (a) 3 мг антитела против LAG-3 и 80 мг антитела против PD-1;
- (b) 3 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1;
- (c) 20 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1;
- (d) 80 мг антитела против LAG-3 и 160 мг антитела против PD-1;
- (e) 80 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1;
- (f) 160 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1; или
- (g) 240 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1.

В одном варианте выполнения изобретения антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в дозе 20 мг антитела против LAG-3 и 80 мг антитела против PD-1. В одном варианте выполнения изобретения опухоль представляет собой рак легкого.

В одном варианте выполнения изобретения антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в дозе 20 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1.

В одном варианте выполнения изобретения антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в дозе 80 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1. В одном варианте выполнения изобретения опухоль представляет собой меланому (напр., меланому, подвергавшуюся лечению антителом против PD1/PD-L1, или лечению меланомы первой линии), RCC (напр., IO naïve RCC), NSCLC (напр., NSCLC, подвергавшуюся лечению антителом против PD1/PD-L1), рак желудка (напр., IO naïve рак желудка), HCC (напр., IO naïve HCC), NSCLC (напр., лечение первой линии NSCLC) или SCCHN (напр., IO naïve SCCHN).

В одном варианте выполнения изобретения антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в дозе 240 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1.

В одном варианте выполнения изобретения антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в дозе 160 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1. В одном варианте выполнения изобретения опухоль представляет собой меланому (напр., меланому, подвергавшуюся лечению антителом против PD1/PD-L1, или лечению меланомы первой линии), RCC (напр., IO naïve RCC), NSCLC (напр., NSCLC, подвергавшуюся лечению антителом против PD1/PD-L1), рак желудка (напр., IO naïve рак желудка), HCC (напр., IO naïve HCC), NSCLC (напр., лечение первой линии NSCLC) или SCCHN (напр., IO naïve SCCHN). В другом варианте выполнения изобретения опухоль представляет собой лимфому Ходжкина (напр., предварительно леченую IO

лимфому Ходжкина); DLBCL, PD-1/PD-L1 naïve лимфому Ходжкина или PD-1/PD-L1 прогрессирующую/рефрактерную лимфому Ходжкина.

В другом варианте выполнения изобретения антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в следующих дозах:

- (a) 0,3 мг/кг антитела против LAG-3 и 1 мг/кг антитела против PD-1;
- (b) 0,3 мг/кг антитела против LAG-3 и 3 мг/кг антитела против PD-1;
- (c) 0,25 мг/кг антитела против LAG-3 и 3 мг/кг антитела против PD-1;
- (d) 1 мг/кг антитела против LAG-3 и 3 мг/кг антитела против PD-1; или
- (e) 3 мг/кг антитела против LAG-3 и 3 мг/кг антитела против PD-1.

В одном варианте выполнения изобретения дозу антитела против LAG-3 и/или против PD-1 рассчитывают на массу тела, напр., мг/кг массы тела. В другом варианте выполнения изобретения доза антитела против LAG-3 и/или против PD-1 представляет собой фиксированную дозу, не требующую перерасчёта, исходя из площади поверхности тела или веса. В другом варианте выполнения изобретения доза антитела против LAG-3 и/или против PD-1 изменяется с течением времени. Например, антитело против LAG-3 и/или антитело против PD-1 могут первоначально вводиться в высокой дозе и со временем могут понижаться. В другом варианте выполнения изобретения антитело против LAG-3 и/или антитело против PD-1 первоначально вводят в низкой дозе и увеличивают с течением времени.

В другом варианте выполнения изобретения количество вводимых антител против LAG-3 и/или против PD-1 является постоянным для каждой дозы. В другом варианте выполнения изобретения количество вводимого антитела изменяется с каждой дозой. Например, поддерживающая (или ступенчатая) доза антитела может быть выше или равна нагрузочной дозе, которая вводится первой. В другом варианте выполнения изобретения поддерживающая доза антитела может быть ниже или равна нагрузочной дозе.

В другом варианте выполнения изобретения антитела против LAG-3 и/или против PD-1 составлены для внутривенного введения. В одном варианте выполнения изобретения антитело против PD-1 вводят в Дни 1, 15, 29 и 43 каждого цикла. В другом варианте выполнения изобретения антитело против LAG-3 вводят в Дни 1, 15, 29 и 43 каждого цикла.

В других вариантах выполнения изобретения антитела против LAG-3 и/или антитела против PD-1 вводят около одного раза в неделю, один раз около каждую или три две недели, около одного раза в месяц или до тех пор, пока наблюдается улучшение

клинических показателей или пока имеет место полный ответ, подтвержденный прогрессирующим заболеванием или неуправляемой токсичностью.

В другом варианте выполнения изобретения цикл введения составляет восемь недель, и при необходимости его можно повторить. В другом варианте выполнения изобретения лечение состоит из вплоть до 12 циклов.

В другом варианте выполнения изобретения 4 дозы антитела против PD-1 вводят в течение восьминедельного цикла. В другом варианте выполнения изобретения 4 дозы антитела против LAG-3 вводят в течение восьминедельного цикла.

В другом варианте выполнения изобретения антитело против PD-1 и антитело против LAG-3 вводят в качестве первой линии лечения (напр., первоначального или первого лечения). В другом варианте выполнения изобретения антитело против PD-1 и антитело против LAG-3 вводят в качестве второй линии лечения (напр., после первоначального или первого лечения, в том числе после рецидива и/или когда первое лечение не удалось).

В одном варианте выполнения изобретение относится к способу лечения пациента-человека с неоперабельной или метастатической меланомой, включающему: введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1; где пациент ранее лечился ингибитором PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретение относится к способу лечения пациента-человека с неоперабельной или метастатической меланомой, включающему: введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1; где пациент ранее лечился ингибитором PD-L1. В определенных вариантах выполнения изобретение относится к способу лечения пациента-человека с неоперабельной или метастатической меланомой, включающему: введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1; где пациент ранее лечился ингибитором PD-1, и где меланома экспрессирует LAG-3. В одном варианте выполнения изобретение относится к способу лечения пациента-человека с неоперабельной или метастатической меланомой, включающему: введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1; где пациент ранее лечился ингибитором PD-L1, и где меланома экспрессирует LAG-3. В одном варианте выполнения изобретение относится к способу лечения пациента с меланомой, которая прогрессировала во время или после лечения ингибитором пути PD-1 или ингибитором пути PD-L1, включающему: введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1; где пациент ранее лечился ингибитором против PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретение

относится к способу лечения пациента с меланомой, который прогрессировала во время или после лечения ингибитором пути PD-1 или ингибитором пути PD-L1, включающему: введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1; где пациент ранее лечился ингибитором против PD-L1. В определенных вариантах выполнения изобретение относится к способу лечения пациента с меланомой, которая прогрессировала во время или после лечения ингибитором пути PD-1 или ингибитором пути PD-L1, включающему: введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1; где пациент ранее лечился ингибитором против PD-1, и где меланома экспрессирует LAG-3. В одном варианте выполнения изобретение относится к способу лечения пациента с меланомой, которая прогрессировала во время или после лечения ингибитором пути PD-1 или ингибитором пути PD-L1, включающему: введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1; где пациент ранее лечился ингибитором против PD-L1, и где меланома экспрессирует LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения экспрессия меланомы LAG-3 составляет $\geq 1\%$. В конкретных вариантах выполнения изобретения вводимый ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1. В одном варианте выполнения изобретения антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб. В определенных вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело LAG-3. В одном варианте выполнения изобретения антитело LAG-3 представляет собой BMS-986016. В одном варианте выполнения изобретения ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-L1.

В одном варианте выполнения изобретения антитело против LAG-3 представляет собой BMS-986016, а антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб. В одном варианте выполнения изобретения антитело против LAG-3 представляет собой МК-4280, а антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб. В одном варианте выполнения изобретения антитело против LAG-3 представляет собой REGN3767, а антитело против PD-1 представляет собой REGN2810. В одном варианте выполнения изобретения антитело против LAG-3 представляет собой LAG525 (Межд. Публ. No. WO2015/138920), а антитело против PD-1 представляет собой PDR001.

В другом аспекте изобретение относится к любому из вышеупомянутых вариантов выполнения, где антитело против PD-1 заменено или объединено с антителом против PD-L1 или против PD-L2.

В другом аспекте изобретение относится к любому из вышеупомянутых вариантов выполнения, где введение антитела против LAG-3 или его

антигенсвязывающего фрагмента и ингибитора пути PD-1 (напр., антитела против PD-1) активирует Т-клетки пациента. В некоторых вариантах выполнения изобретения введение антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента и ингибитора пути PD-1 (напр., антитела против PD-1) индуцирует экспрессию маркеров активации Т-клетками пациента. Экспрессия маркеров активации Т-клетками пациента может быть обнаружена путем анализа образца пациента, например, периферических лимфоцитов или инфильтрирующих опухоль лимфоцитов с использованием проточной цитометрии.

В другом аспекте изобретение относится к любому из вышеупомянутых вариантов выполнения, где введение антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента приводит к заполнению по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95% или около 100% рецепторов LAG-3 на Т-клетках пациента. В некоторых вариантах выполнения изобретения Т-клетки представляют собой CD8⁺ Т-клетки. В некоторых вариантах выполнения изобретения Т-клетки представляют собой инфильтрирующие опухоль Т-клетки.

В другом аспекте изобретение относится к любому из вышеупомянутых вариантов выполнения, где протокол лечения дополнительно включает введение по меньшей мере одного дополнительного терапевтического агента. В некоторых вариантах выполнения изобретения по меньшей мере один дополнительный терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент. В некоторых вариантах выполнения изобретения по меньшей мере один дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор контрольных точек иммунного ответа.

12. Результаты

В Отношении Целевых Поражений Ответы на Терапию Могут Включать:

Полный Ответ (CR) (RECIST V1.1)	Исчезновение всех целевых поражений. Любые патологические лимфатические узлы (целевые или нецелевые) должны иметь сокращение по короткой оси до <10 мм.
Частичный ответ (PR) (RECIST V1.1)	По меньшей мере 30% уменьшение суммы диаметров целевых поражений, принимая за начальное значение сумму исходных диаметров.

Прогрессирующее Заболевание (PD) (RECIST V1.1)		По меньшей мере 20% уменьшение суммы диаметров целевых поражений, принимая за начальное значение наименьшую сумму в исследовании (включая базовую сумму, если она наименьшая в исследовании). Помимо относительного увеличения на 20%, сумма также должна демонстрировать абсолютное увеличение по меньшей мере на 5 мм. (Примечание: появление одного или нескольких новых поражений также считается прогрессированием).
Стабильное Заболевание (SD) (RECIST V1.1)		Отсутствует как достаточное уменьшение, чтобы считаться PR, так и достаточное увеличение, чтобы считаться PD, принимая за начальное значение наименьшую сумму диаметров в исследовании.
Связанный Иммунитетом Полный Ответ (irCR) (irRECIST)	с	Исчезновение всех целевых поражений. Любые патологические лимфатические узлы (целевые или нецелевые) должны иметь сокращение по короткой оси до <10 мм.
Связанный Иммунитетом Частичный Ответ (irPR) (irRECIST)	с	По меньшей мере 30% уменьшение суммы диаметров целевых поражений и всех новых измеримых поражений (т.е. Процентное Изменение в Опухолевой Нагрузке), принимая за начальное значение сумму исходных диаметров. Примечание: появление новых измеримых поражений учитывается в общей Опухолевой Нагрузке, но автоматически не квалифицируется как прогрессирующее заболевание до тех пор, пока сумма диаметров не увеличится на $\geq 20\%$ по сравнению с самым низким уровнем.
Связанное Иммунитетом Прогрессирующее Заболевание (irPD) (irRECIST)	с	По меньшей мере 20% увеличение Опухолевой Нагрузки (т.е. суммы диаметров целевых поражений и любых новых измеримых поражений), принимая за начальное значение наименьшую сумму в исследовании (включая сумму базовой линии, если она наименьшая в исследовании). Помимо относительного увеличения на 20%, сумма также должна демонстрировать абсолютное увеличение по меньшей мере на 5 мм. Оценка опухолей с использованием иммунологических критериев для прогрессирующего заболевания включает вклад новых измеримых поражений.

		Каждое чистое процентное изменение в опухолевой нагрузке на оценку учитывает размер и кинетику роста как старых, так и новых поражений по мере их появления.
Связанное Иммунитетом Стабильное Заболевание (irSD) (irRECIST)	с	Отсутствует как достаточное уменьшение, чтобы считаться irPR, так и достаточное увеличение, чтобы считаться irPD, принимая за начальное значение наименьшую сумму диаметров в исследовании.

В отношении нецелевых поражений ответы на терапию могут включать:

Полный Ответ (CR) (RECIST V1.1)		Исчезновение всех нецелевых поражений. Все лимфатические узлы должны быть непатологического размера (короткая ось <10 мм).
Не-CR/не-PD (RECIST V1.1)		Постоянство одного или нескольких нецелевых поражений.
Прогрессирующее Заболевание (PD) (RECIST V1.1)		<i>Несомненное прогрессирующее</i> существующих нецелевых поражений. Появление одного или нескольких новых поражений также считается прогрессирующим.
Связанный Иммунитетом Полный Ответ (irCR) (irRECIST)	с	Исчезновение всех нецелевых поражений. Все лимфатические узлы должны быть непатологического размера (короткая ось <10 мм).
Связанное Иммунитетом Прогрессирующее Заболевание (irPD) (irRECIST)	с	Увеличение числа или размера нецелевого поражения(ий) не представляет собой прогрессирующее заболевание, если/пока Опухолевая Нагрузка не увеличится на 20% (т.е. сумма диаметров при самом низком уровне целевых поражений и любые новые измеримые поражения увеличиваются на требуемую величину). Нецелевые поражения не рассматриваются в определении Стабильного Заболевания и Частичного Ответа.

Пациенты, получающие лечение в соответствии с раскрытыми в настоящем документе способами, предпочтительно испытывают улучшение по меньшей мере одного признака рака. В одном варианте выполнения изобретения улучшение измеряют по уменьшению количества и/или размера измеряемых опухолевых поражений. В

другом варианте выполнения изобретения поражения могут быть измерены на рентгеновских снимках грудной клетки или пленках КТ или МРТ. В другом варианте выполнения изобретения для оценки восприимчивости к терапии могут использоваться цитология или гистология.

В одном варианте выполнения изобретения пациент, получавший лечение, проявляет полный ответ (CR), частичный ответ (PR), стабильное заболевание (SD), полное связанное с иммунитетом заболевание (irCR), связанный с иммунитетом частичный ответ (irPR) или связанное с иммунитетом стабильное заболевание (irSD). В другом варианте выполнения изобретения пациент, которого лечат, испытывает уменьшение опухоли и/или уменьшение скорости роста, т.е. подавление роста опухоли. В другом варианте выполнения изобретения нежелательная пролиферация клеток уменьшается или ингибируется. В еще одном варианте выполнения изобретения может иметь место одно или несколько из следующего: количество раковых клеток может быть уменьшено; размер опухоли может быть уменьшен; проникновение раковых клеток в периферические органы может быть ингибировано, заторможено, замедлено или остановлено; метастазирование опухоли может быть замедлено или ингибировано; рост опухоли может быть замедлен; рецидив опухоли может быть предотвращен или отсрочен; один или несколько симптомов, связанных с раком, могут быть в некоторой степени ослаблены.

В других вариантах выполнения изобретения введение эффективных количеств антитела против LAG-3, антитела против PD-1, антитела против PD-L1, антитела против CTLA-4, комбинации антитела против LAG-3 и антитела против PD-1 или комбинации антитела против PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа в соответствии с любым из способов, представленных в настоящем документе, дает по меньшей мере один терапевтический эффект, выбранный из группы, состоящей из уменьшения размера опухоли, уменьшения количества метастатических поражений, появляющихся с течением времени, полной ремиссии, частичной ремиссии или стабильного заболевания.

В еще других вариантах выполнения изобретения способы лечения приводят к лучшему улучшению клинических показателей ($CBR = CR + PR + SD \geq 6$ месяцев), чем улучшению клинических показателей, которое достигается с помощью способа лечения, который не включает этап (i) определения уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли до лечения, (ii) выбора положительной по LAG-3 опухоли для лечения, (iii) лечения опухоли, которая была идентифицирована как положительная по LAG-3 до лечения, или (iv) любых их комбинаций. В других вариантах выполнения изобретения улучшение

клинических показателей составляет около 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или более по сравнению со способом лечения, который не включает стадию (i) определения уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли до лечения, (ii) выбора положительной по LAG-3 опухоли для лечения, (iii) лечения опухоли, которая была идентифицирована как положительная по LAG-3 до лечения, или (iv) любых их комбинаций.

В еще других вариантах выполнения изобретения способы лечения приводят к показателю объективного ответа ($ORR=CR+PR$) по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90% или около 100%. В одном варианте выполнения изобретения способы лечения приводят к показателю объективного ответа по меньшей мере около 15%, где злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 меланому, которая устойчива к лечению антителом против PD-1 или против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения средняя продолжительность ответа составляет ≥ 3 месяцев, ≥ 6 месяцев, ≥ 12 месяцев или ≥ 18 месяцев. В одном варианте выполнения изобретения средняя продолжительность ответа составляет ≥ 6 месяцев. В некоторых вариантах выполнения изобретения частота пациентов с продолжительностью ответа ≥ 6 месяцев составляет по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90% или 100%.

В еще других вариантах выполнения изобретения способы лечения приводят к лучшему показателю объективного ответа ($ORR=CR+PR$), чем тот, который достигается способом лечения, который не включает этап (i) определения уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли до лечения, (ii) выбора положительной по LAG-3 опухоли для лечения, (iii) лечения опухоли, которая была идентифицирована как положительная по LAG-3 до лечения, или (iv) любых их комбинаций. В других вариантах выполнения изобретения улучшение показателя объективного ответа составляет около 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или более по сравнению со способом лечения, который не включает этап (i) определения уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли до лечения, (ii) выбора положительной по LAG-3 опухоли для лечения, (iii) лечения опухоли, которая была идентифицирована как положительная по LAG-3 до лечения, или (iv) любых их комбинаций. В некоторых вариантах выполнения изобретения средняя продолжительность ответа составляет ≥ 3 месяцев, ≥ 6 месяцев, ≥ 12 месяцев или ≥ 18

месяцев. В одном варианте выполнения изобретения средняя продолжительность ответа составляет ≥ 6 месяцев.

В еще других вариантах выполнения изобретения способы лечения приводят к показателю контроля заболевания ($DRR=CR+PR+SD$) по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90% или около 100%. В одном варианте выполнения изобретения способы лечения приводят к показателю контроля заболевания по меньшей мере около 70%, где злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 меланому, которая устойчива к лечению антителом против PD-1 или против PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения средняя продолжительность ответа составляет ≥ 3 месяцев, ≥ 6 месяцев, ≥ 12 месяцев или ≥ 18 месяцев. В одном варианте выполнения изобретения средняя продолжительность ответа составляет ≥ 6 месяцев. В некоторых вариантах выполнения изобретения частота пациентов с продолжительностью ответа ≥ 6 месяцев составляет по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90% или 100%.

В еще других вариантах выполнения изобретения способы лечения приводят к лучшему показателю контроля заболевания ($DRR=CR+PR+SD$), чем тот, который достигается способом лечения, который не включает этап (i) определения уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли до лечения, (ii) выбора положительной по LAG-3 опухоли для лечения, (iii) лечения опухоли, которая была идентифицирована как положительная по LAG-3 до лечения, или (iv) любых их комбинаций. В других вариантах выполнения изобретения улучшение показателя контроля заболевания составляет около 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или более по сравнению со способом лечения, который не включает стадию (i) определения уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли до лечения, (ii) выбора положительной по LAG-3 опухоли для лечения, (iii) лечения опухоли, которая была идентифицирована как положительная по LAG-3 до лечения, или (iv) любых их комбинаций. В некоторых вариантах выполнения изобретения средняя продолжительность ответа составляет ≥ 3 месяцев, ≥ 6 месяцев, ≥ 12 месяцев или ≥ 18 месяцев. В одном варианте выполнения изобретения средняя продолжительность ответа составляет ≥ 6 месяцев.

13. Наборы и Единичные Дозированные Формы

Также в объем настоящего изобретения входят диагностические наборы, содержащие антитело против LAG-3 для анализа экспрессии LAG-3 в качестве биомаркера для скрининга пациентов для иммунотерапии или для прогнозирования эффективности иммунотерапии. Наборы обычно включают надпись с указанием предполагаемого применения содержащего набора и инструкции по применению. Термин «надпись» означает любую запись или записанный материал, нанесенный на набор или поставляемый с набором, или который другим образом прилагается к набору. В определенных вариантах выполнения диагностического набора первое антитело против LAG-3 для анализа, обнаружения и/или количественного определения экспрессии LAG-3 совместно упаковывают по меньшей мере с одним терапевтическим антителом (напр., вторым антителом против LAG-3, антителом против PD-1, антителом против PD-L1 и/или антителом против CTLA-4) для лечения опухоли, положительной по LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения набор дополнительно содержит антитело против PD-L1 для анализа, обнаружения и/или количественного определения экспрессии PD-L1 в качестве биомаркера для прогнозирования эффективности иммунотерапии. В одном варианте выполнения изобретения иммунотерапия включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 (напр., антитела против LAG-3) и ингибитора пути PD-1 (напр., антитела против PD1 или антитела против PD-L1). В одном варианте выполнения изобретения иммунотерапия включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 (напр., антитела против LAG-3). В одном варианте выполнения изобретения иммунотерапия включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 (напр., антитела против PD1 или антитела против PD-L1). В одном варианте выполнения изобретения иммунотерапия включает введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против PD1. В одном варианте выполнения изобретения иммунотерапия включает введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4. В одном варианте выполнения изобретения иммунотерапия включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 (напр., антитела против PD1 или антитела против PD-L1) и ингибитора контрольных точек иммунного ответа.

В определенных вариантах выполнения изобретения диагностический набор содержит моноклональное антитело против LAG-3 человека для анализа, выявления и/или количественного определения экспрессии LAG-3. См., напр., J. Matsuzaki, et al.; PNAS 107, 7875 (2010).

Также настоящее изобретение относится к терапевтическим наборам, которые содержат фармацевтическую композицию, содержащую антитело против LAG-3, такое как BMS-986016, и антитело против PD-1, такое как ниволумаб, и фармацевтически приемлемый носитель, в терапевтически эффективном количестве, адаптированном для применения в вышеизложенных способах. В определенных вариантах выполнения терапевтического набора антитело против LAG-3 совместно упаковывают с антителом против PD-1 в единичной дозированной форме. Наборы необязательно также могут содержать инструкции, напр., содержащие режимы введения для того, чтобы позволить практикующему врачу (напр., врачу, медсестре или пациенту) вводить содержащуюся в нем композицию для введения композиции пациенту, имеющему рак (напр., солидную опухоль). Набор также может включать шприц.

Необязательно, диагностические и/или терапевтические наборы включают множество упаковок фармацевтических композиций с однократной дозой, каждая из которых содержит эффективное количество антитела против LAG-3 или против PD-1 для однократного введения в соответствии со способами, описанными выше. В наборы также могут быть включены инструменты или устройства, необходимые для введения фармацевтической композиции(й). Например, набор может содержать один или несколько предварительно заполненных шприцев, содержащих количество антитела против LAG-3 или против PD-1.

В одном варианте выполнения настоящее изобретение относится к набору для лечения пациента, имеющего злокачественную опухоль, например, набору, содержащему:

(a) дозу антитела против LAG-3, такого как антитело, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:5;

(b) дозу антитела против PD-1, такого как антитело, содержащее домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:21; и

(c) инструкции по применению антитела против LAG-3 и антитела против PD-1 в описанных в настоящем документе способах.

В одном варианте выполнения настоящее изобретение относится к набору для лечения пациента, имеющего злокачественную опухоль, где набор, например, включает:

(a) дозу антитела против LAG-3, такого как антитела, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:5; и

(b) инструкции по применению антитела против LAG-3 в описанных в настоящем документе способах.

В одном варианте выполнения настоящее изобретение относится к набору для лечения пациента, имеющего злокачественную опухоль, где набор, например, включает:

(a) дозу антитела против PD-1, такого как антитела, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:21; и

(b) инструкции по применению антитела против PD-1 в описанных в настоящем документе способах.

В одном варианте выполнения настоящее изобретение относится к набору для лечения пациента, имеющего злокачественную опухоль, где набор, например, включает:

(a) дозу антитела против PD-L1, такого как BMS-936559; и

(b) инструкции по применению антитела против PD-L1 в описанных в настоящем документе способах.

В одном варианте выполнения настоящее изобретение относится к набору для лечения пациента, имеющего злокачественную опухоль, где набор, например, включает:

(a) дозу антитела против CTLA-4, такого как ипилимумаб (YERVOY); и

(b) инструкции по применению антитела против CTLA-4 в описанных в настоящем документе способах.

В одном варианте выполнения настоящее изобретение относится к набору для лечения пациента, имеющего злокачественную опухоль, где набор, например, включает:

(a) дозу антитела против LAG-3, такого как антитело, содержащее домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, приведенную в SEQ ID NO:5;

(b) дозу ингибитора контрольных точек иммунного ответа; и

(c) инструкции по применению антитела против PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа в описанных в настоящем документе способах.

В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль. В некоторых вариантах

выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3/PD-L1 опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3/отрицательную по PD-L1 опухоль.

В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой меланому.

Настоящее изобретение дополнительно иллюстрируется следующими примерами, которые не следует рассматривать как дополнительное ограничение.

ПРИМЕРЫ

ПРИМЕР 1

Оптимизация и Валидация Анализа для Автоматического Обнаружения LAG3
(Мышиный Клон 17B4) с помощью Иммуногистохимии с Одним Пятном с
Хромогеном DAB и Оценка с помощью Анализа Изображений в Зафиксированной
Формалином и Погруженный в Парафин Ткани Человека

Цель этого исследования состояла в том, чтобы валидировать иммуногистохимический анализ для гена-3 активации лимфоцитов (LAG3) с использованием коммерчески доступного антитела (мышинный клон 17B4) от LS Biosciences для применения в зафиксированной формалином и погруженной в парафин (FFPE) ткани человека.

Иммуногистохимия (ИНС) относится к процессу локализации белков или других молекул в клетках среза ткани. Иммуногистохимическое окрашивание широко используется в диагностике рака и недавно использовалось для прогнозирования вероятности ответа пациентов на нацеленное химиотерапевтическое средство. В отличие от многих других аналитических методик, таких как Вестерн-блот или ELISA, ИНС сохраняет пространственную локализацию экспрессии белка в образце ткани. Эта методика включает применение антитела (первичного антитела) для специфического связывания мишени в клеточном окружении, а затем применение связанного антитела для депонирования красителя в области мишени.

Тестовая Система. Валидация FFPE была проведена на остаточных, неидентифицированных или анонимных образцах человека. Ткани, использованные для тестирования и анализа чувствительности, включали 40 случаев рака мочеиспускательного канала, 41 случай рака желудка/GEJ, 41 случай HNSCC, 41 случай меланомы, 41 случай NSCLC и 43 случая RCC. Положительным и отрицательным контролем, выбранным для ИНС LAG3, была ткань миндалин. Ткань миндалин содержит

клеточные особенности, которые являются положительными и отрицательными по LAG3.

Опытные Образцы. Антитело LAG3 мышиноного клона 17B4 было приобретено у LS Biosciences (Seattle, WA) и хранилось при -20°C. Контрольное антитело мыши изотипа IgG было приобретено у BD Pharmingen (San Jose, CA) и хранилось при 2-8°C.

Иммуногистохимия. Иммуногистохимия проводилась в соответствии со стандартными лабораторными методиками.

Предварительная обработка. Процедуру анализа ИHC LAG3 (мышинный клон 17B4) проводили с использованием автоматического определения при комнатной температуре (RT) на Leica Bond Rx (Leica Biosystems, Buffalo Grove, IL) с применением коммерчески доступных реагентов. Образцы секционировали до толщины 4 микрон, переносили на положительно заряженные предметные стекла, высушивали, обжигали, депарафинизировали и регидратировали в автономном режиме. Затем ткани помещали на автостейнер и подвергали предварительной обработке с использованием Epitope Retrieval Solution 1 (Catalog# AR9961, Leica) в течение 20 минут при 100°C с последующим промыванием Bond Wash Buffer (Catalog # AR9590, Leica) при комн. темп.

Ткани для Анализа с помощью Хромогена DAB инкубировали с Peroxide Block (Catalog# DS9800, Leica) в течение 5 минут с последующими 3 промывками в Bond Wash Buffer. Ткани инкубировали с Protein Block, Serum Free (Catalog# X0909, Dako, Carpinteria, CA) в течение 5 минут с последующей инкубацией с первичным антителом или реагентом с реагентом с отрицательным контролем по изотипу, разведенным в Bond Primary Antibody Diluent (Catalog# AR9352, Leica) в течение 30 минут и 3 промывками в Bond Wash Buffer. Ткани инкубировали с Post Primary (Bond Polymer Refine Detection Kit, Catalog# DS9800, Leica) в течение 8 минут с последующими 3 промывками в Bond Wash buffer в течение 2 минут на каждую. Ткани инкубировали с Polymer (Bond Polymer Refine Detection Kit) в течение 8 минут с последующими 3 промывками в Bond Wash buffer в течение 2 минут на каждую и 2 промывками в дистиллированной воде. Ткани инкубировали с DAB (Bond Polymer Refine Detection Kit) в течение 10 минут с последующим 4 промывками в дистиллированной воде.

Ткани для Анализа с помощью Красного Хромогена затем инкубировали с 3% перекисью водорода в течение 5 минут с последующими 3 промывками в Bond Wash Buffer. Ткани инкубировали с Protein Block, Serum Free в течение 5 минут с последующей инкубацией с первичным антителом или реагентом с отрицательным контролем по изотипу, разведенным в Bond Primary Antibody Diluent в течение 30 минут, и 3 раза промывали в Bond Wash Buffer. Ткани инкубировали с Post Primary AP (Catalog# DS9390,

Bond Polymer Refine Red Detection Kit, Leica) в течение 20 минут с последующими 3 промывками в Bond Wash buffer по 2 минуты каждая. Ткани инкубировали с Polymer AP (Bond Polymer Refine Red Detection Kit) в течение 30 минут с последующими 3 промывками в Bond Wash buffer в течение 2 минут каждая и 2 промывками в дистиллированной воде. Ткани инкубировали с Red Refine (Bond Polymer Refine Red Detection Kit) в течение 10 минут с последующими 4 промывками в дистиллированной воде.

Ткани После Обработки инкубировали с Гематоксилином (Bond Polymer Refine Detection Kit) в течение 5 минут с последующей промывкой в дистиллированной воде и промывкой в Bond Wash Buffer. Установка покровного стекла происходила в автономном режиме с использованием автоматизированного стеклянного покровного стекла (Leica) в соответствии со стандартными процедурами.

Слайды были отсканированы с использованием системы Aperio Turbo AT (Aperio, Vista, CA) для получения полных изображений слайдов. Для этого отчета предоставлено изображение 20X JPEG каждого пятна.

Ткани для Анализа Изображения, окрашенные LAG3 (мышинный клон 17B4) с использованием хромогена DAB или красного хромогена, оценивали анализом изображения с помощью алгоритма Nuclear v9 от Aperio. ROI включает область опухолевой ткани с интервенционной стромой. Области, исключенные из анализа, включают нормальную ткань, большие стромальные области, некротическую ткань, смолу (если возможно) и окрашивающий артефакт.

Алгоритм по ядрам был выбран потому, что тяжелые цитоплазматические пятна в маленьких клетках, таких как иммунные клетки, часто скрывают гематоксин в ядре. Для цитоплазматического и мембранного алгоритма требуется визуализация гематоксилина в ядре для количественного охарактеризовывания клетки. Алгоритм по ядрам имеет особенность, называемую «заполнение дыр», которая заполнит центральную часть лимфоцита, если присутствует гематоксин, и запишет его как одну клетку.

Визуальная Иммунологическая Оценка Патолога. Подгруппа образцов в динамическом диапазоне также оценивалась патологом во время QC анализа изображения. Целью визуальной иммунологической оценки патолога является предоставление вспомогательного результата в случае, если оценка анализа изображения не даст точного результата, как посчитает сертифицированный патолог. Причины неудачи анализа изображения могут включать, но не ограничиваются: 1) световое контрокрашивание; 2) разрушенная ткань; 3) наличие смолы в тканях NSCLC; 4) окрашивание

гемосидерина; или 5) наличие меланина, что исключает оценку. Визуальная иммунологическая оценка патолога представляет собой процент положительных иммунных клеток в аннотированной области (для имитации алгоритма).

Валидация - Чувствительность Анализа ИHC LAG3. Анализ чувствительности проводили с использованием оптимизированного анализа ИHC LAG3 (мышиный клон 17B4) на 247 тканях человека FFPE (40 случаев рака мочеиспускательного канала, 41 случай рака желудка/GEJ, 41 случай HNSCC, 41 случай меланомы, 41 случай NSCLC, 43 случая RCC) тканях для того, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа в пределах 6 показаний. Все образцы оценивали с помощью анализа изображения 1 ROI (опухоль + интервенционная строма), и также оценивалось подмножество тканей (10 в каждом из 6 показаний) по визуальной иммунологической оценке патолога.

В среднем, экспрессия LAG-3 (мышиный клон 17B4) была самой высокой в меланоме (3,54%), за которой следовали уротелиальный рак мочевого пузыря (2,58%), NSCLC (1,68%), HNSCC (1,47%), рак желудка/GEJ (1,27%) и RCC (1,24%). Позитивность варьировалась от 0,01% до 25,57% со средним значением 1,95% и медианой 0,84%. Использование порогового значения в 2% продемонстрировало 192 отрицательных и 55 положительных тканей (12 случаев уротелиального рака мочевого пузыря, 6 случаев рака желудка/GEJ, 7 случаев HNSCC, 18 случаев меланомы, 8 случаев NSCLC и 4 случая RCC).

На Фигуре 1 показаны закономерности окрашивания анти-LAG-3, наблюдаемые в образцах опухоли с использованием моноплексной ИHC. Наблюдаемые закономерности окрашивания включали частичную мембранную/цитоплазматическую локализацию, точечную локализацию и полную мембранную/цитоплазматическую локализацию.

На Фигуре 2 показано распределение частоты положительных по LAG-3 клеток в виде отношения общих опухолевых клеток к различным опухолям, обнаруженным с помощью моноплексной ИHC LAG-3.

ПРИМЕР 2

Начальная Эффективность Гена-3 Против Активации Лимфоцитов (Anti-LAG-3; BMS-986016) в Комбинации С Ниволумабом у Пациентов С Меланомой, Ранее Получавших

Терапию Анти-PD1/PD-L1

Одновременная блокада отрицательных Т-клеточных регуляторов LAG-3 и PD-1 может функционировать синергетически для восстановления активации Т-клеток и

усиления противоопухолевого иммунитета. Данные исследования фазы 1/2a BMS-986016 (полностью человеческого IgG4 mAb, который нацеливается на LAG-3) ± ниволумаб (полностью человеческого IgG4 mAb, который нацеливается на PD-1) продемонстрировали, что комбинация хорошо переносилась, и показали многообещающую противоопухолевую активность у пациентов с меланомой, которая была рефрактерной или рецидивирующей во время предшествующей терапии анти-PD-1/PD-L1 (NCT01968109; Ascierto et al. *J Clin Oncol.* 2017;35(suppl) [abstract 9520]). Ниже приведены данные об эффективности у пациентов с распространенной меланомой, которые продемонстрировали прогрессирование при предшествующей терапии анти-PD-1/PD-L1.

Это было открытое исследование фазы I/IIa с повышением дозы и расширением когорты, в котором оценивались безопасность, переносимость и эффективность BMS-986016, вводимого отдельно или в комбинации с ниволумабом у пациентов с распространенными солидными опухолями. Пациенты получали исследуемую терапию внутривенно один раз каждые две недели в течение вплоть до двенадцати 8-недельных циклов лечения. Комбинированная доза для расширения составляла BMS-986016 80 мг + ниволумаб 240 мг.

Дизайн исследования и конечные точки показаны на Фигурах 3 и 17.

Ключевые критерии приемлемости для пациентов в расширенной когорте меланомы с предшествующей ИО показаны на Фигуре 3.

Результаты. По состоянию на момент прекращения приема данных 7 апреля 2017 года, 212 пациентов получили лечение, включая 55 пациентов с меланомой, которые продемонстрировали прогрессирование при предшествующей терапии анти-PD1/PD-L1 (мел предш. ИО). Из 212 пациентов 61% все еще находились на лечении на момент прекращения приема данных. Из 83 пациентов, которые прекратили лечение, основной причиной этого было прогрессирование заболевания (86%). Из когорты мел предш. ИО 67% пациентов имели заболевание M1C без метастазирования в мозг, 15% имели лактатдегидрогеназу (LDH) $\geq 2 \times$ верхний предел нормы (ULN) и 20% имели метастазы в печени. Фигура 4.

Пациенты в когорте мел предш. ИО подвергались тяжелому предварительному лечению. Фигура 5. Из 55 пациентов 76% имели ≥ 2 предшествующих терапий; 40% пациентов имели прогрессирующее заболевание (PD) как лучший ответ на предшествующую терапию анти-PD1/PD-L1.

На Фигуре 6 показан статус экспрессии LAG-3 в первых 40 опытных образцах меланомы Ю. 40% (16/40) образцов были оценены как положительные по LAG-3 с использованием отсечки $\geq 1\%$ в моноплексном анализе ИНС.

Эффективность в когорте меланомы с предш. Ю. Средняя продолжительность наблюдения для всех оцениваемых по эффективности пациентов ($n = 48$; все имели прогрессирование при предшествующей терапии анти-PD-1/PD-L1) составила 14 недель (диапазон от 4,1 до 41 недели). Ответ по оценке исследователя показан на Фигуре 7. Общий показатель ответа (ORR) составил 13% и 6 пациентов имели PR (2 из которых имели PD как лучший ответ на предшествующую терапию анти-PD1/PD-L1). 15 пациентов имели снижение опухолевой нагрузки по отношению к исходному уровню; снижение $> 30\%$ наблюдалось у 7 пациентов (Фигура 8). Как показано на Фигуре 8, экспрессия LAG-3 влияет на ответ. На Фигуре 9 показана глубина и продолжительность ответа LEG-3 $\geq 1\%$, LAG-3 $< 1\%$ и LAG-3 у неизвестных пациентов.

На Фигуре 10 показана продолжительность выживаемости без прогрессирования. Из 48 поддающихся оценке пациентов 46% (22/48) пациентов остаются на лечении без прогрессирования на момент прекращения приема данных.

Как показано на Фигуре 11, было почти 3-кратное увеличение ORR для пациентов с экспрессией LAG-3 $\geq 1\%$ (20%) по сравнению с экспрессией LAG-3 $< 1\%$ (7,1%). Экспрессия PD-L1, по-видимому, не влияет на ответ.

Обновленные результаты клинического исследования показаны на Фигурах 16-23. По состоянию на август 2017 года лечение получили 262 пациента, включая 68 пациентов с меланомой, которые продемонстрировали прогрессирование при предшествующей терапии анти-PD1/PD-L1 (мел предш. Ю). Обновленная базовая демография и характеристики заболевания показаны на Фигуре 17. Из когорты мел предш. Ю 68% пациентов имели заболевание M1C без метастазирования в мозг, 13% имели лактатдегидрогеназу (LDH) $\geq 2 \times$ верхний предел нормы (ULN) и 25% имели метастазы в печени.

На Фигуре 18 показана обновленная история предшествующего лечения когорты мел предш. Ю. Из 68 пациентов 77% имели ≥ 2 предшествующих терапий; 46% пациентов имели прогрессирующее заболевание (PD) как лучший ответ на предшествующую терапию анти-PD1/PD-L1. Большинство пациентов (57%) также получали предшествующую терапию анти-CTLA-4. У 46% пациентов был лучший ответ PD на предшествующую терапию анти-PD-1/PD-L1.

На Фигуре 19 показаны обновленные данные об эффективности для когорты мел предш. Ю. ORR составлял 11,5%, а DCR составлял 49%. Экспрессия LAG-3 ($\geq 1\%$), по-

видимому, влияет на ответ. Средняя продолжительности ответа не была достигнута (диапазон 0,1+–39,3+).

На Фигуре 20 показан ответ по исходным характеристикам и экспрессия LAG-3 наблюдается в когорте мел предш. Ю. Экспрессия LAG-3 ($\geq 1\%$) влияет на ответ независимо от экспрессии PD-L1.

На Фигурах 21 и 22 показано наилучшее изменение размера целевого поражения с помощью экспрессии LAG-3 и PD-L1 и глубина и продолжительность ответа с помощью экспрессии LAG-3 и PD-L1, соответственно, наблюдаемые в когорте мел предш. Ю. Ответы были более вероятными у пациентов с экспрессией LAG-3 $\geq 1\%$. Экспрессия PD-L1, по-видимому, не влияет на ответ.

На Фигуре 23 показана продолжительность выживаемости без прогрессирования. Из 61 поддающегося оценке пациента 34% (21/61) пациентов не прогрессировали на момент прекращения приема данных. Из 33 поддающихся оценке пациентов с LAG-3 $\geq 1\%$ 55% (18/33) пациентов не прогрессировали на момент прекращения приема данных. Из 20 поддающихся оценке пациентов с LAG-3 $<1\%$ 5% (1/20) пациентов не прогрессировали на момент прекращения приема данных.

ПРИМЕР 3

Предварительная эффективность и обогащение биомаркерами нескольких распространенных солидных опухолей в исследовании Фазы 1/2а комбинации моноклонального антитела против LAG-3 и против PD-1

LAG-3 является трансмембранным рецептором, который негативно регулирует активацию Т-клеток. Передача сигналов через LAG-3 и другие рецепторы, ингибирующие Т-клетки, включая запрограммированную смерть-1 (PD-1), может привести к истощению Т-клеток и является механизмом ускользания от иммунного ответа для опухолей. Одновременная блокада LAG-3 и PD-1 может функционировать синергетически для восстановления активации Т-клеток и усиления противоопухолевого иммунитета. В исследовании фазы 1/2а BMS-986016 (IgG4 mAb, нацеленный на LAG-3) ± ниволумаб (IgG4 mAb, нацеленный на PD-1) продемонстрировали переносимость, активацию периферических Т-клеток и предварительную клиническую активность (NCT01968109; Lipson et al. *J Immunother Cancer*. 2016;4(suppl):173 [abstract P232]). Эффективность BMS-986016 + ниволумаба в нескольких расширенных когортах с распространенными солидными опухолями оценивалась как в неограниченных популяциях, так и в популяциях с биомаркерами.

Все пациенты (n = 204 по состоянию на 7 апреля 2017 г.) получали лечение BMS-986016 80 мг + ниволумаб 240 мг Q2W в течение 56 дней до прогрессирования заболевания, подтвержденного полного ответа, завершения 12 циклов или недопустимой токсичности. Большинство когорт было сконцентрировано на иммуноонкологически нативных пациентах с прогрессированием по меньшей мере после 1 другой предшествующей терапии и включало пациентов с распространенным раком желудка/гастроэзофагеального перехода, плоскоклеточной карциномой головы и шеи, гепатоцеллюлярной карциномой, почечно-клеточным раком и NSCLC. Еще одна когорта включала пациентов с NSCLC, которые прогрессировали во время/после предшествующей терапии анти-PD-1/PD-L1 в качестве своей последней терапии. Определяемые биомаркерами подгруппы пациентов были описаны на основе иммуногистохимического анализа PD-L1 и LAG-3 при биопсиях опухоли.

На Фигуре 12 показан статус экспрессии LAG-3 в иммуноонкологически наивных образцах опухолей желудка. 48% (10/21) образцов были оценены как положительные по LAG-3 с использованием отсечки $\geq 1\%$ в моноплексном анализе ИHC.

На Фигуре 13 показано изменение размера целевого поражения у пациентов с иммуноонкологическим раком желудка в ответ на лечение комбинацией антител против LAG-3 и против PD-1. Положительные по LAG-3 опухоли были преимущественными среди пациентов, которые были чувствительны к лечению. Реакцию опухоли определяли по данным RECIST. Показанная группа пациентов ранее не подвергалась лечению против PD-1/PD-L1.

На Фигуре 14 показан статус экспрессии LAG-3 в иммуноонкологически наивных клетках SCCHN, почечной карциномы, HCC и NSCLC, определенный с помощью моноплексного анализа ИHC.

ПРИМЕР 4

Многоопухолевое Профилирование LAG-3 и Ассоциация с Фенотипами Иммунных Клеток

LAG-3 отрицательно регулирует активацию Т-клеток. Siervo S et al. *Expert Opin Ther Targets*. 15:91–101 (2011); Grosso JF et al. *J Clin Invest*. 117:3383–3392 (2007). Рецепторы LAG-3 и запрограммированной смерти-1 (PD-1) сверхэкспрессируются и коэкспрессируются на инфильтрирующих опухоль лимфоцитах (TIL). Goding SR et al. *J Immunol*. 190:4899–4909 (2013). Сверхэкспрессия LAG-3 и PD-1 может ограничивать ответ на лечение при терапии анти-PD-1 и приводить к прогрессированию опухоли. Ascierto P et al. Poster 9520 presented at the 53rd Annual Meeting of the American Society of

Clinical Oncology; June 2–6, 2017; Chicago, IL; Wherry, *Nat Immunol.* 12(6):492–9 (2011); Woo SR et al. *Cancer Res.* 72:917–927 (2012); Huang CT et al. *Immunity.* 21:503–513 (2004). BMS-986016 является полностью человеческим антителом IgG4, которое нацеливается на LAG-3, блокируя его связывание с лигандом, главным комплексом гистосовместимости класса II (МНС II) (Фигура 24). Huard B et al. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 94:5744–5749 (1997). BMS-986016 в комбинации с ниволумабом (анти-PD-1) может восстанавливать активацию Т-клеток и опухолевый ответ у пациентов, заболевание которых прогрессировало при монотерапии анти-PD-1. Ascierto P et al. Poster 9520 presented at the 53rd Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology; June 2–6, 2017; Chicago, IL. Это двойное ингибирование может также повысить продолжительность ответа у пациентов, ранее не получавших терапию против PD-1. Одновременная блокада LAG-3 и PD-1 с помощью BMS-986016 и ниволумаба соответственно вызывала активацию периферических Т-клеток и демонстрировала клиническую активность и управляемую безопасность у пациентов с распространенными солидными опухолями. Ascierto P et al. Poster 9520 presented at the 53rd Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology; June 2–6, 2017; Chicago, IL; Lipson E et al. *J Immunother Cancer.* 4(suppl 1):173 (2016). Для дальнейшего понимания связи между LAG-3 и маркерами устойчивости по опухолям был проведен комплексный анализ коммерческих образцов опухолей для исследования и характеристики экспрессии LAG-3 и МНС II в контексте воспалительных биомаркеров.

Способы

Количественная Иммуногистохимия (ИНС) Образцы солидных опухолей были получены у пациентов с почечно-клеточным раком (RCC), раком желудка, немелкоклеточной карциномой легкого (NSCLC), меланомой, плоскоклеточной карциномой головы и шеи (SCCHN) и уротелиальной карциномой. Срезы слайдов окрашивали ИНС для LAG-3, CD8, FOXP3, CD68, CD163, PD-L1 и МНС II с использованием платформ Leica Bond Rx или Dako Link 48. Для маркеров иммунных клеток (LAG-3, CD8, FOXP3, CD68, CD163) процент позитивности определяли с использованием программного обеспечения для анализа изображений Aperio путем определения доли общих ядросодержащих клеток, экспрессирующих биомаркер, в микроокружении опухоли. Экспрессию МНС II и PD-L1 оценивали вручную на опухолевых клетках с помощью ИНС. Необслуживаемая кластеризация (метод Уорда) была выполнена на данных ИНС для того, чтобы идентифицировать ассоциации между LAG-3 и другими иммунными биомаркерами. Для того чтобы определить

колокализацию МНС II+ и LAG-3+, области опухолевых клеток МНС II-высокая ($> 70\%$ МНС II+) или МНС II-низкая ($< 10\%$ МНС II+) были оценены на количество окрашенных LAG-3 клеток (среднее значение из трех полей обзора $20\times$, каждое для положительных и отрицательных областей).

Анализ мРНК У пациентов с RCC и меланомой изменения в уровнях мРНК LAG-3 определяли с помощью дифференциального анализа экспрессии генов по данным Affymetrix (RCC) или РНК-секвенирования (меланомы) из образцов биопсии опухоли, собранных при скрининге и через 2–4 недели после начала иммунотерапии.

Статистический Анализ Корреляций между экспрессией LAG-3 и другими иммунными биомаркерами оценивали по корреляции Спирмена, ранговый тест Манна–Уитни проводился для оценки статистических различий. Дифференциальный анализ экспрессии генов проводили с использованием обобщенных линейных моделей, которые включали в качестве факторов группу лечения и время.

Результаты

Экспрессия LAG-3 в Опухолях. Для образцов опухоли, проанализированных по 6 различным типам солидных опухолей ($n = 245$: RCC, 43; желудка, 41; NSCLC, 41; меланома, 40; SCCHN, 40; уротелиальный, 40) наблюдался диапазон от низкой до высокой экспрессии LAG-3 (от 0,01% до 33% от общего числа ядродержащих клеток). Экспрессия LAG-3 может быть локализована в перинуклеарных, мембранных или цитоплазматических областях лимфоцитов, как показано окрашиванием ИHC (Фигура 25).

Ассоциация LAG-3 С Иммунными и Воспалительными Биомаркерами. Наблюдалась умеренная корреляция экспрессии LAG-3 с CD8, FOXP3, CD163 и CD68 ($n = 237$: RCC, 43; желудка, 39; NSCLC, 39; меланома, 39; SCCHN, 40; уротелиальный, 37) (Фигура 26A–D, $r = 0,49–0,65$); корреляции LAG-3 с экспрессией опухолей PD-L1 и МНС II не наблюдалось (Фигура 26E и 26F, $r = 0,28–0,30$). Экспрессия МНС II в опухолевых клетках ($\geq 1\%$) часто наблюдалась от низкой 55% (меланома) до высокой 82% (карцинома желудка).

Опухоли с $\geq 1\%$ экспрессией МНС II в опухолевых клетках показали значительное увеличение частоты TIL LAG-3+ (Фигура 27, $n = 241$: RCC, 43; желудка, 40; NSCLC, 40; меланома, 38; SCCHN, 40; уротелиальный, 40).

Неконтролируемая кластеризация образцов по типу опухоли выявила кластеры опухолей с диапазоном воспаления от низкого до высокого в 6 проанализированных

типах опухолей (примеры на Фигуре 28А, уротелиальная карцинома, n = 37; и 28В, карцинома желудка, n = 39).

Повышенная экспрессия опухоли МНС II часто наблюдалась в опухолях с высоким воспалением, но также наблюдалась в опухолях с более низкими уровнями воспаления (пример на Фигуре 28А, уротелиальная карцинома). Из тех образцов, которые положительно окрашивались для экспрессии МНС II в опухолевых клетках, уровень экспрессии МНС II коррелировал с уровнем TIL LAG-3+ в некоторых типах опухолей (примеры на Фигуре 28А и 298, уротелиальная и желудочная карцинома). Большинство опухолей с высокой экспрессией МНС II имели низкую экспрессию PD-L1 (Фигура 28С, n = 229: RCC, 43; желудка, 39; NSCLC, 38; меланома, 33; SCCHN, 39; уротелиальная, 37).

Экспрессия Гетерогенных Опухолевых Клеток МНС II и TIL LAG-3+. В подмножестве протестированных образцов опухоли (n = 6) наблюдалась гетерогенная экспрессия опухолевых клеток МНС II, варьирующаяся от низкой (<10%) до высокой (>70%) (Фигура 29А, уротелиальная карцинома, n = 4; карцинома желудка, n = 2). В этом подмножестве значительное увеличение количества TIL LAG-3+ наблюдалось в опухолевых областях с высокой экспрессией МНС II по сравнению с низкой экспрессией МНС II (Фигура 29А-С).

Изменения Уровня мРНК LAG-3 Во Время Монотерапии против PD-1. При анализе образцов тканей от пациентов с метастатической меланомой (NCT01621490/CheckMate 038) или метастатическим RCC (NCT01358721/ CheckMate 009) наблюдалось значительное увеличение уровней мРНК LAG-3 между скринингом и 2-4-й недель лечения ниволумабом (Фигура 30).

Экспрессия LAG-3 была связана с клеточным воспалением в микроокружении опухоли, как показано с помощью ИНС. Экспрессия опухолевых клеток МНС II часто наблюдалась в 6 проанализированных типах опухолей; экспрессия LAG-3 в иммунных клетках преобладала в опухолях с экспрессией МНС II в опухолевых клетках. Более высокая частота TIL LAG-3+ наблюдалась в областях с высокой/положительной опухолью МНС II по сравнению с областями с низкой/отрицательной опухолью МНС II в отдельных образцах опухоли, что повышает вероятность того, что совместная локализация экспрессии LAG-3 и МНС II в опухолевых клетках может служить механизмом активации контрольной точки LAG-3 в определенных опухолях. Эти результаты и наблюдение, что ниволумаб может индуцировать экспрессию LAG-3, являются подтверждением применения LAG-3 в качестве прогностического биомаркера

для терапии BMS-986016 у пациентов, заболевание которых прогрессировало после лечения терапией против PD-1.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

SEQ ID NO:1 Аминокислотная Последовательность Тяжелой Цепи; Анти-LAG-3 mAb (BMS-986016)

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDYYWNWIRQPPGKGLEWIGEINHRGS
TNSNPSLKSRLVTLSDTSKNQFSLKLRSVTAADTAVYYCAFGYSDYEYNWFDPWGQ
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP
CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS
DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

SEQ ID NO:2 Аминокислотная Последовательность Легкой Цепи; Анти-LAG-3 mAb (BMS-986016)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWEYQQKPGQAPRLLIYDASNRAITGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISILEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTNLEIKRTVAAPSVEIF
PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:3 Аминокислотная Последовательность Варибельной Области Тяжелой Цепи (VH); Анти-LAG-3 mAb (BMS-986016)

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDYYWNWIRQPPGKGLEWIGEINHRGS
TNSNPSLKSRLVTLSDTSKNQFSLKLRSVTAADTAVYYCAFGYSDYEYNWFDPWGQ
GTLVTVSS

SEQ ID NO:4 Нуклеотидная Последовательность Варибельной Области Тяжелой Цепи (VH); Анти-LAG-3 mAb (BMS-986016)

cagggtgcagctacagcagtggtggcgaggactgtgaagccttcggagaccctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttca
gtgattactactggaactggatccgccagccccagggaaggggctggagtggtgggaaatcaatcatcgtggaagcaccaact
ccaaccggtccctcaagagtcgagtcaccctatcactagacacgtccaagaaccagttctccctgaagctgaggtctgtgaccgccgc

ggacacggctgtgtattactgtgcgttggatatagtgactacgagtacaactgggtcgaccctggggccagggaaccctggtcaccg
tctctca

SEQ ID NO:5 Аминокислотная Последовательность Вариабельной Области Легкой Цепи (VL); Анти-LAG-3 mAb (BMS-986016)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTNLEIK

SEQ ID NO:6 Нуклеотидная Последовательность Вариабельной Области Легкой Цепи (VL); Анти-LAG-3 mAb (BMS-986016)

gaaattgtgtgacacagtctccagccaccctgtcttgtctccaggggaaagagccaccctctcctgcagggccagtcagagtattagc
agctacttagcctggtagcaaacagaaacctggccaggctcccaggctcctcatgatgatccaacagggccactggcatccag
ccaggttcagtgagcagtggtctgggacagacttcactctcaccatcagcagcctagagcctgaagattttgcagtttattactgtcagca
gcgtagcaactggcctctcacttttggccaggggaccaacctggagatcaaa

SEQ ID NO:7 Аминокислотная Последовательность Тяжелой Цепи CDR1; Анти-LAG-3 mAb (BMS-986016)

DYYWN

SEQ ID NO:8 Аминокислотная Последовательность Тяжелой Цепи CDR2; Анти-LAG-3 mAb (BMS-986016)

EINHRGSTNSNP SLKS

SEQ ID NO:9 Аминокислотная Последовательность Тяжелой Цепи CDR3; Анти-LAG-3 mAb (BMS-986016)

GYSDYEYNWFDP

SEQ ID NO:10 Аминокислотная Последовательность Легкой Цепи CDR1; Анти-LAG-3 mAb (BMS-986016)

RASQSISSYLA

SEQ ID NO:11 Аминокислотная Последовательность Легкой Цепи CDR2; Анти-LAG-3 mAb (BMS-986016)

DASNRAT

SEQ ID NO:12 Аминокислотная Последовательность Легкой Цепи CDR3; Анти-LAG-3 mAb (BMS-986016)

QQRSNWPLT

SEQ ID NO:13 Аминокислотная Последовательность LAG-3 Человека

MWEAQFLGLLFLQPLWVAPVKPLQPGAIEVPVWVAQEGAPQLPCSTIPLQDLSLLR
RAGVTWQHQPDSGPPAAAPGHPLAPGHPAAPSSWGPRPRRYTVLSVGPGLRSGRL
PLQPRVQLDERGRQRGDFSLWLRPARRADAGEYRAAVHLRDRALSCRLRLRLGQAS
MTASPPGSLRASDWVILNCSFSRPDRPASVHWFRNRGQGRVPVRESPIHHHLAESFLFL
PQVSPMDSGPWGCILTYRDGFNVSIMYNLTVLGLEPPTPLTVYAGAGSRVGLPCRLP
AGVGTRSFLTAKWTPPGGGPDLLVTGDNGDFTLRLEDVSQAQAGTYTCHHLQEQQ
LNATVTLAIITVTPKSFGSPGSLGKLLCEVTPVSGQERFVWSSLDTPSQRSFSGPWLEA
QEAQLLSQPWQCQLYQGERLLGAAVYFTELSSPGAQRSGRAPGALPAGHLLLFLTLG
VLSLLLLVTGAFGFHLWRRQWRPRRFSALEQGIHPPQAQSKIEELEQEPEPEPEPEPEP
EPEPEPEQL

SEQ ID NO:14 Эпитоп LAG-3

PGHPLAPG

SEQ ID NO:15 Эпитоп LAG-3

HPAAPSSW

SEQ ID NO:16 Эпитоп LAG-3

PAAPSSWG

SEQ ID NO:17 Аминокислотная Последовательность Тяжелой Цепи; Анти-PD-1 mAb (BMS936558)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDG
SKRYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLVTV
SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV D HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEF
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL
YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

SEQ ID NO:18 Аминокислотная Последовательность Легкой Цепи; Анти-PD-1 mAb (BMS936558)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIF
PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL
SSTLLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:19 Аминокислотная Последовательность Варибельной Области Тяжелой Цепи (VH); Анти-PD-1 mAb (BMS936558)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDG
SKRYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLVTV
SS

SEQ ID NO:20 Нуклеотидная Последовательность Варибельной Области Тяжелой Цепи (VH); Анти-PD-1 mAb (BMS936558)

cagggtgcagctggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactcgactgtaaagcgtctggaatcaccttc
agtaactctggcatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggcagttatttggtatgatggaagtaaaagat
actatgcagactccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtttctgcaaatgaacagcctgagagcc
gaggacacggctgtgtattactgtgcgacaacgacgactactggggccagggaaccctggtcaccgtctcctca

SEQ ID NO:21 Аминокислотная Последовательность Вариабельной Области Легкой Цепи (VL); Анти-PD-1 mAb (BMS936558)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO:22 Нуклеотидная Последовательность Вариабельной Области Легкой Цепи (VL); Анти-PD-1 mAb (BMS936558)

gaaattgtgtgacacagtctccagccaccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccctctcctgcagggccagtcagagtgttagt
agttacttagcctggtaccaacagaaacctggccaggctcccaggctcctcatctatgatgcatccaacagggccactggcatcccagc
caggttcagtggcagtggtgtgggacagacttcactctcaccatcagcagcctagagcctgaagatttgcagtttattactgtcagcag
agtagcaactggcctcggacgttcggccaagggaccaaggtggaaatcaaa

SEQ ID NO:23 Аминокислотная Последовательность Тяжелой Цепи CDR1; Анти-PD-1 mAb (BMS936558)

NSGMH

SEQ ID NO:24 Аминокислотная Последовательность Тяжелой Цепи CDR2; Анти-PD-1 mAb (BMS936558)

VIWYDGSKRYYADSVKG

SEQ ID NO:25 Аминокислотная Последовательность Тяжелой Цепи CDR3; Анти-PD-1 mAb (BMS936558)

NDDY

SEQ ID NO:26 Аминокислотная Последовательность Легкой Цепи CDR1; Анти-PD-1 mAb (BMS936558)

RASQSVSSYLA

SEQ ID NO:27 Аминокислотная Последовательность Легкой Цепи CDR2; Анти-PD-1 mAb (BMS936558)

DASNRAT

SEQ ID NO:28 Аминокислотная Последовательность Легкой Цепи CDR3; Анти-PD-1 mAb (BMS936558)

QQSSNW PRT

SEQ ID NO:29 Полная последовательность PD-1 Homo sapiens

[illegible]

gggcaggggccaccagcatccaggcggccagcaggcacctgagtggtgggacaagggatcccccttccctgtggttctattatattat
aattataattaaatatgagagcatgct

SEQ ID NO:30 Нуклеотидная Последовательность Тяжелой Цепи; Анти-LAG-3 mAb
(BMS-986016)

cagggtgcagctacagcagtgggggcgaggactgttgaagccttcggagaccctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttca
gtgattactactggaactggatccgccagccccagggaaggggctggagtggtgggaaatcaatcatcgtggaagcaccaact
ccaaccctgcctcaagagtcgagtcaccctatcactagacacgtccaagaaccagttctccctgaagctgaggtctgtgaccgccgc
ggacacggctgtgtattactgtgcgtttggatatagtgactacgagtacaactgggtcgaccctggggccagggaaccctggtcaccg
tctctcagctagcaccaaggggcccatcgtcttccccctggcgccctgtccaggagcacctccgagagcacagccgacctgggt
gcctggctcaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacacctccccggctg
tcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtgggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacgaagacctacacctgcaacgt
agatcacaagcccagcaacaccaagggtggacaagagagttgagtcctaatatgggtcccccatgcccacctgcccagcacctgagtt
cctgggggggaccatcagtccttctgttcccccaaaacccaaggacactctcatgatctccggaccctgaggtcacgtgcgtgggtg
gtggacgtgagccaggaagacccccgaggtccagttcaactggtacgtggatggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcg
ggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagt
gcaaggtctccaacaaaggcctcccgtcctccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagagccacaggtgtac
accctgcccccatcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctgggtcaaaggcttctacccagcgacatcgcc
gtggagtgaggagcaatgggcagccggagacaactacaagaccacgcctcccgtgtggactccgacggctccttcttctctac
agcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggaggggaatgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaacctac
acacagaagagcctctccctgtctctgggtaaatga

SEQ ID NO:31 Нуклеотидная Последовательность Легкой Цепи; Анти-LAG-3 mAb
(BMS-986016)

gaaattgtgtgacacagtcctcagccaccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccctctcctgcaggggccagtcagagtattagc
agctacttagcctggtagcaacagaaacctggccaggctcccaggctcctcatctatgatgcatccaacaggggccactggcatccag
ccaggttcagtgagcagtggtgtgggacagacttcactctcaccatcagcagcctagagcctgaagattttgcagtttattactgtcagca
gcgtagcaactggcctctcacttttggccaggggaccaacctggagatcaaactgacgggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgc
atctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgtgcctgtgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtgggaaggt
ggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacc
ctgacgtgagcaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaa
gagcttcaacaggggagagtgtag

SEQ ID NO:32 Мотив

MYPPPY

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ выбора злокачественной опухоли у пациента-человека для иммунотерапии, включающий:
 - (a) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и
 - (b) выбор опухоли для иммунотерапии, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью.
2. Способ идентификации злокачественной опухоли у пациента-человека как подходящей для иммунотерапии, включающий:
 - (a) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и
 - (b) идентификацию опухоли как подходящей для иммунотерапии, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью.
3. Способ идентификации злокачественной опухоли у пациента-человека, которая может быть чувствительной к иммунотерапии, включающий:
 - (a) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и
 - (b) идентификацию опухоли как вероятно чувствительной к лечению, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью.
4. Способ классификации злокачественной опухоли у пациента-человека как вероятно чувствительной к иммунотерапии, включающий:
 - (a) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и
 - (b) классификацию опухоли как вероятно чувствительной к иммунотерапии, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью.
5. Способ по любому одному из пп. 1-4, дополнительно включающий определение уровня экспрессии PD-L1 в образце опухоли.
6. Способ по любому одному из пп. 1-5, в котором иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1.

7. Способ по любому одному из пп. 1-5, в котором иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора LAG-3.
8. Способ по любому одному из пп. 1-5, в котором иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора пути PD-1.
9. Способ по любому одному из пп. 1-5, в котором иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством антитела против CTLA-4.
10. Способ по любому одному из пп. 1-5, в котором иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа.
11. Способ по любому одному из пп. 1-5, включающий контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1.
12. Способ по любому одному из пп. 1-5, включающий контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора LAG-3.
13. Способ по любому одному из пп. 1-5, включающий контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора пути PD-1.
14. Способ по любому одному из пп. 1-5, включающий контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством антитела против CTLA-4.
15. Способ по любому одному из пп. 1-5, включающий контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа.
16. Способ по любому одному из пп. 1-5, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1.

17. Способ по любому одному из пп. 1-5, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3.
18. Способ по любому одному из пп. 1-5, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1.
19. Способ по любому одному из пп. 1-5, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4.
20. Способ по любому одному из пп. 1-5, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа.
21. Способ идентификации пациента со злокачественной опухолью, который вероятно ответит на иммунотерапию, включающий:
- (b) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и
 - (b) идентификацию пациента, который вероятно ответит на лечение, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью.
22. Способ выбора пациента со злокачественной опухолью для иммунотерапии, включающий:
- (a) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и
 - (b) выбор пациента для иммунотерапии, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью.
23. Способ по п. 21 или п. 22, дополнительно включающий определение уровня экспрессии PD-L1 в образце опухоли.
24. Способ по любому одному из пп. 21-23, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1.
25. Способ по любому одному из пп. 21-23, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3.

26. Способ по любому одному из пп. 21-23, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1.
27. Способ по любому одному из пп. 21-23, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4.
28. Способ по любому одному из пп. 21-23, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа.
29. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, включающий: введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1; где предсказано, что пациент отвечает на лечение ингибитором LAG-3 и ингибитором пути PD-1 на основании экспрессии LAG-3 в образце опухоли пациента.
30. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, включающий: введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3; где предсказано, что пациент отвечает на лечение ингибитором LAG-3 на основании экспрессии LAG-3 в образце опухоли пациента.
31. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, включающий: введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1; где предсказано, что пациент отвечает на лечение ингибитором пути PD-1 на основании экспрессии LAG-3 в образце опухоли пациента.
32. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, включающий: введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4; где предсказано, что пациент отвечает на лечение антителом против CTLA-4 на основании экспрессии LAG-3 в образце опухоли пациента.
33. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, включающий: введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа; где предсказано, что пациент

отвечает на лечение ингибитором пути PD-1 и ингибитором контрольных точек иммунного ответа на основании экспрессии LAG-3 в образце опухоли пациента.

34. Способ по любому одному из пп. 29-33, в котором предсказано, что пациент отвечает на лечение на основании экспрессии LAG-3 и PD-L1 в образце опухоли пациента.

35. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий:

- (a) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и
- (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль.

36. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий:

- (a) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и
- (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль.

37. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий:

- (a) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и
- (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль.

38. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий:

- (a) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и
- (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль.

39. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий:

- (a) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и

(b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа, если опухоль представляет собой положительную по LAG-3 опухоль.

40. Способ по любому одному из пп. 35-39, дополнительно включающий определение уровня экспрессии PD-L1 в образце опухоли.

41. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, в котором пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением.

42. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, в котором пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением.

43. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1, в котором пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением.

44. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4, в котором пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением.

45. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа, в котором пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением.

46. Способ по любому одному из пп. 41-45, в котором пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением.

47. Способ по любому одному из пп. 41-45, в котором пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением.

48. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий:

- (a) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль; и
- (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1.

49. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий:

- (a) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль; и
- (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3.

50. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий:

- (a) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль; и
- (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1.

51. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий:

- (a) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль; и
- (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4.

52. Способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий:

- (a) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль; и
- (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа.

53. Способ по любому одному из пп. 48-52, дополнительно включающий идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль.

54. Способ по любому одному из пп. 48-52, дополнительно включающий идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль.

55. Способ продления периода выживаемости без прогрессирования на более чем 12 месяцев у пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающий введение пациенту ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где пациент демонстрирует выживаемость без прогрессирования в течение более чем 12 месяцев.

56. Способ продления периода выживаемости без прогрессирования на более чем 12 месяцев у пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающий введение пациенту ингибитора LAG-3, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где пациент демонстрирует выживаемость без прогрессирования в течение более чем 12 месяцев.

57. Способ продления периода выживаемости без прогрессирования на более чем 12 месяцев у пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающий введение пациенту ингибитора пути PD-1, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где пациент демонстрирует выживаемость без прогрессирования в течение более чем 12 месяцев.

58. Способ продления периода выживаемости без прогрессирования на более чем 12 месяцев у пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающий введение пациенту антитела против CTLA-4, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где пациент демонстрирует выживаемость без прогрессирования в течение более чем 12 месяцев.

59. Способ продления периода выживаемости без прогрессирования на более чем 12 месяцев у пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающий введение пациенту ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где пациент демонстрирует выживаемость без прогрессирования в течение более чем 12 месяцев.

60. Способ по любому одному из пп. 55-59, в котором пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением.

61. Способ по любому одному из пп. 55-59, в котором пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением.

62. Способ по любому одному из пп. 55-61, в котором выживаемость без прогрессирования пациента продлевается после введения на более чем около 13 месяцев, около 14 месяцев, около 15 месяцев, около 16 месяцев, около 17 месяцев, около 18 месяцев, около 2 лет, около 3 лет, около 4 лет, около 5 лет, около 6 лет, около 7 лет, около 8 лет, около 9 лет или около 10 лет.

63. Способ по п. 62, в котором выживаемость без прогрессирования пациента продлевается на более чем 14 месяцев.

64. Способ уменьшения размера опухоли по меньшей мере на 10% у пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3

злокачественную опухоль перед введением и где введение уменьшает размер опухоли по меньшей мере на около 10%, около 20%, около 30%, около 40%, около 50%, около 60%, около 70%, около 80%, около 90% или 100% по сравнению с размером опухоли перед введением.

65. Способ уменьшения размера опухоли по меньшей мере на 10% у пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где введение уменьшает размер опухоли по меньшей мере на около 10%, около 20%, около 30%, около 40%, около 50%, около 60%, около 70%, около 80%, около 90% или 100% по сравнению с размером опухоли перед введением.

66. Способ уменьшения размера опухоли по меньшей мере на 10% у пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где введение уменьшает размер опухоли по меньшей мере на около 10%, около 20%, около 30%, около 40%, около 50%, около 60%, около 70%, около 80%, около 90% или 100% по сравнению с размером опухоли перед введением.

67. Способ уменьшения размера опухоли по меньшей мере на 10% у пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где введение уменьшает размер опухоли по меньшей мере на около 10%, около 20%, около 30%, около 40%, около 50%, около 60%, около 70%, около 80%, около 90% или 100% по сравнению с размером опухоли перед введением.

68. Способ уменьшения размера опухоли по меньшей мере на 10% у пациента-человека, имеющего злокачественную опухоль, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где введение уменьшает размер опухоли по меньшей мере на около 10%, около 20%, около 30%, около

40%, около 50%, около 60%, около 70%, около 80%, около 90% или 100% по сравнению с размером опухоли перед введением.

69. Способ по любому одному из пп. 64-68, в котором пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением.

70. Способ по любому одному из пп. 64-68, в котором пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением.

71. Способ по любому одному из пп. 55-70, дополнительно включающий идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением.

72. Способ по любому одному из пп. 55-71, дополнительно включающий идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением.

73. Способ по любому одному из пп. 55-71, дополнительно включающий идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением.

74. Способ по любому одному из пп. 55-73, в котором пациент испытывает (i) продленную выживаемость без прогрессирования на более чем 12 месяцев, (ii) уменьшение размера опухоли по меньшей мере на около 10%, около 20%, около 30%, около 40% или около 50% по сравнению с размером опухоли перед введением или (iii) оба.

75. Способ увеличения показателя объективного ответа на лечение рака до уровня, превышающего около 50%, в популяции пациентов-людей, где каждый из которых имеет злокачественную опухоль, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную

опухоль перед введением, и где показатель объективного ответа выше чем около 55%, около 60%, около 65%, около 70% или около 75%.

76. Способ увеличения показателя объективного ответа на лечение рака до уровня, превышающего около 50%, в популяции пациентов-людей, где каждый из которых имеет злокачественную опухоль, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где показатель объективного ответа выше чем около 55%, около 60%, около 65%, около 70% или около 75%.

77. Способ увеличения показателя объективного ответа на лечение рака до уровня, превышающего около 50%, в популяции пациентов-людей, где каждый из которых имеет злокачественную опухоль, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где показатель объективного ответа выше, чем около 55%, около 60%, около 65%, около 70% или около 75%.

78. Способ увеличения показателя объективного ответа на лечение рака до уровня, превышающего около 50%, в популяции пациентов-людей, где каждый из которых имеет злокачественную опухоль, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где показатель объективного ответа выше чем около 55%, около 60%, около 65%, около 70% или около 75%.

79. Способ увеличения показателя объективного ответа на лечение рака до уровня, превышающего около 50%, в популяции пациентов-людей, где каждый из которых имеет злокачественную опухоль, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где показатель объективного ответа выше чем около 55%, около 60%, около 65%, около 70% или около 75%.

80. Способ увеличения показателя контроля заболевания для лечения рака до уровня, превышающего около 50%, в популяции пациентов-людей, где каждый из которых имеет злокачественную опухоль, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где показатель объективного ответа выше чем около 55%, около 60%, около 65%, около 70% или около 75%.

81. Способ увеличения показателя контроля заболевания для лечения рака до уровня, превышающего около 50%, в популяции пациентов-людей, где каждый из которых имеет злокачественную опухоль, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где показатель объективного ответа выше чем около 55%, около 60%, около 65%, около 70% или около 75%.

82. Способ увеличения показателя контроля заболевания для лечения рака до уровня, превышающего около 50%, в популяции пациентов-людей, где каждый из которых имеет злокачественную опухоль, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где показатель объективного ответа выше чем около 55%, около 60%, около 65%, около 70% или около 75%.

83. Способ увеличения показателя контроля заболевания для лечения рака до уровня, превышающего около 50%, в популяции пациентов-людей, где каждый из которых имеет злокачественную опухоль, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где показатель объективного ответа выше чем около 55%, около 60%, около 65%, около 70% или около 75%.

84. Способ увеличения показателя контроля заболевания для лечения рака до уровня, превышающего около 50%, в популяции пациентов-людей, где каждый из которых имеет

злокачественную опухоль, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где показатель объективного ответа выше, чем около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, или около 75%.

85. Способ по любому одному из пп. 75-84, в котором каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением.

86. Способ по любому одному из пп. 75-84, в котором каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением.

87. Способ по любому одному из пп. 75-86, в котором средняя продолжительность ответа составляет ≥ 3 месяца, ≥ 6 месяцев, ≥ 12 месяцев или ≥ 18 месяцев.

88. Способ по любому одному из пп. 75-87, дополнительно включающий идентификацию каждого пациента из популяции пациентов как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением.

89. Способ по любому одному из пп. 75-88, дополнительно включающий идентификацию каждого пациента из популяции пациентов как имеющего положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением.

90. Способ по любому одному из пп. 75-88, дополнительно включающий идентификацию каждого пациента из популяции пациентов как имеющего положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль перед введением.

91. Способ по любому одному из пп. 75-90, в котором каждый пациент из популяции пациентов дополнительно характеризуется (i) продленной выживаемостью без прогрессирования на более чем 12 месяцев, (ii) уменьшением размера опухоли по

меньшей мере на около 10%, около 20%, около 30%, около 40% или около 50% по сравнению с размером опухоли перед введением или (iii) обоими.

92. Способ по любому одному из пп. 75-91, в котором популяция пациентов включает по меньшей мере около 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 или 1000 пациентов, имеющих положительную по LAG-3 злокачественную опухоль.

93. Способ выбора пациента-человека, подходящего для комбинированной терапии, включающий:

- (a) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль; и
- (b) инструктаж медицинского работника о введении пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1.

94. Способ выбора пациента-человека, подходящего для комбинированной терапии, включающий:

- (a) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль; и
- (b) инструктаж медицинского работника о введении пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3.

95. Способ выбора пациента-человека, подходящего для комбинированной терапии, включающий:

- (a) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль; и
- (b) инструктаж медицинского работника о введении пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1.

96. Способ выбора пациента-человека, подходящего для комбинированной терапии, включающий:

- (a) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль; и
- (b) инструктаж медицинского работника о введении пациенту терапевтически эффективного количества антитела против CTLA-4.

97. Способ выбора пациента-человека, подходящего для комбинированной терапии, включающий:

- (a) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль; и
- (b) инструктаж медицинского работника о введении пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути PD-1 и ингибитора контрольных точек иммунного ответа.

98. Способ по любому одному из пп. 93-97, дополнительно включающий идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль.

99. Способ по любому одному из пп. 93-97, дополнительно включающий идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль.

100. Способ по любому одному из пп. 93-99, в котором введение лечит злокачественную опухоль.

101. Способ по любому одному из пп. 93-100, в котором идентификация пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль включает определение экспрессии LAG-3 в злокачественной опухоли.

102. Способ по любому одному из пп. 93-101, в котором идентификация пациента как имеющего положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль включает определение экспрессии PD-L1 в злокачественной опухоли.

103. Способ по любому одному из пп. 93-101, в котором идентификация пациента как имеющего положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль включает определение экспрессии PD-L1 в злокачественной опухоли.

104. Способ по любому одному из пп. 93-103, в котором экспрессию LAG-3 определяют путем просмотра результатов анализа, способного определять экспрессию LAG-3.

105. Способ по любому одному из пп. 93-103, в котором экспрессию LAG-3 определяют путем просмотра результатов иммуногистохимического анализа, способного определять экспрессию LAG-3.

106. Способ по любому одному из пп. 93-105, в котором экспрессию PD-L1 определяют путем просмотра результатов анализа, способного определять экспрессию PD-L1.

107. Способ по любому одному из пп. 93-105, в котором экспрессию PD-L1 определяют путем просмотра результатов иммуногистохимического анализа, способного обнаруживать экспрессию PD-L1.

108. Способ по любому одному из пп. 1-107, в котором положительная по LAG-3 опухоль содержит по меньшей мере около 1%, по меньшей мере около 2%, по меньшей мере около 3%, по меньшей мере около 4%, по меньшей мере около 5%, по меньшей мере около 7%, по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90% или 100% клеток, экспрессирующих LAG-3.

109. Способ по любому одному из пп. 1-107, в котором положительная по LAG-3 опухоль содержит по меньшей мере около 1% клеток, экспрессирующих LAG-3.

110. Способ по любому одному из пп. 1-107, в котором положительная по LAG-3 опухоль содержит по меньшей мере около 5% клеток, экспрессирующих LAG-3.

111. Способ по любому одному из пп. 108-110, в котором клетки, экспрессирующие LAG-3, содержат инфильтрирующие опухоль лимфоциты.

112. Способ по любому одному из пп. 109-110, в котором клетки, экспрессирующие LAG-3, представляют собой общее количество клеток.

113. Способ по любому одному из пп. 109-112, в котором клетки экспрессируют LAG-3 на клеточной поверхности.

114. Способ по любому одному из пп. 1-113, в котором злокачественная опухоль выбрана из группы, состоящей из рака печени, рака кости, рака поджелудочной железы, рака кожи, рака ротовой полости, рака головы или шеи, рака молочной железы, рака легкого, включая мелкоклеточный и немелкоклеточный рак легкого, кожной или внутриглазной злокачественной меланомы, рака почки, рака матки, рака яичника, колоректального рака, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака анальной области, рака желудка, рака яичка, рака матки, карциномы маточных труб, карциномы эндометрия, карциномы шейки матки, карциномы влагалища, карциномы вульвы, неходжкинской лимфомы, рака пищевода, рака тонкой кишки, рака эндокринной системы, рака щитовидной железы, рака околощитовидной железы, рака надпочечников, саркомы мягких тканей, рака мочеиспускательного канала, рака полового члена, рака детского возраста, лимфоцитарной лимфомы, рака мочевого пузыря, рака почки или мочеточника, рака почечной лоханки, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), первичной лимфомы ЦНС, ангиогенеза опухоли, опухоли позвоночника, глиомы ствола головного мозга, аденомы гипофиза, саркомы Капоши, рака эпидермоидных клеток, рака плоских клеток, индуцированных окружающей средой видов рака, включая индуцированные асбестом, гематологических злокачественных новообразований, включая, например, множественную миелому, В-клеточную лимфому, лимфому Ходжкина/первичную В-клеточную медиастинальную лимфому, неходжкинских лимфом, острой миелоидной лимфомы, хронического миелогенного лейкоза, хронического лимфоидного лимфолейкоза, фолликулярного лейкоза, диффузного В-крупноклеточного лейкоза, лимфомы Беркитта, иммунобластного крупноклеточного лейкоза, предшественника В-лимфобластного лейкоза, лимфомы мантийных клеток, острого лимфобластного лейкоза, фунгоидного микоза, анапластической крупноклеточной лимфомы, Т-клеточной лимфомы, и предшественника В-лимфобластного лейкоза, и любой их комбинации.

115. Способ по любому одному из пп. 1-113, в котором злокачественную опухоль выбирают из меланомы, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), опухоли, связанной с вирусом папилломы человека (HPV), и аденокарциномы желудка.

116. Способ по любому одному из пп. 1-113, в котором злокачественная опухоль представляет собой немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), опухоль, связанную с раком, связанным с вирусами, или аденокарциному желудка.

117. Способ по любому одному из пп. 1-113, в котором злокачественная опухоль представляет собой меланому, рак желудка, рак желудочно-пищеводного перехода, немелкоклеточный рак легкого, рак мочевого пузыря, плоскоклеточную карциному головы и шеи или почечно-клеточный рак.

118. Способ по любому одному из пп. 1-113, в котором злокачественная опухоль представляет собой рак легкого, меланому, плоскоклеточную карциному головы и шеи, рак почки, рак желудка или гепатоцеллюлярную карциному.

119. Способ по любому одному из пп. 1-113, в котором положительная по LAG-3 злокачественная опухоль представляет собой опухоль меланомы, содержащую около 1% или более клеток, экспрессирующих LAG-3.

120. Способ по любому одному из пп. 1-113, в котором положительная по LAG-3 злокачественная опухоль представляет собой опухоль рака желудка, содержащую около 1% или более клеток, экспрессирующих LAG-3.

121. Способ по любому одному из пп. 1-120, в котором злокачественная опухоль рефрактерна к лечению ингибитором контрольных точек иммунного ответа.

122. Способ по любому одному из пп. 1-121, в котором злокачественная опухоль рефрактерна к лечению антителом против PD-1.

123. Способ по любому одному из пп. 1-122, в котором злокачественная опухоль рефрактерна к лечению антителом против PD-L1.

124. Способ лечения меланомы у пациента-человека, включающий:

- (a) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 меланому;
- и
- (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1.

125. Способ по п. 124, в котором идентификация пациента как имеющего положительную по LAG-3 меланому включает определение экспрессии LAG-3 в опухоли меланомы.

126. Способ по п. 125, в котором экспрессию LAG-3 определяют путем просмотра результатов анализа, способного определять экспрессию LAG-3.

127. Способ по п. 125, в котором экспрессию LAG-3 определяют с помощью иммуногистохимического анализа, способного определять экспрессию LAG-3.

128. Способ по любому одному из пп. 124-127, дополнительно включающий идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль.

129. Способ по любому одному из пп. 124-127, дополнительно включающий идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль.

130. Способ лечения меланомы у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 меланому перед введением.

131. Способ продления периода выживаемости без прогрессирования на более чем 12 месяцев у пациента-человека, имеющего меланому, включающий введение пациенту ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, где пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 меланому перед введением и где пациент демонстрирует выживаемость без прогрессирования в течение более чем 12 месяцев.

132. Способ по п. 130 или п. 131, в котором пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 меланому перед введением.

133. Способ по п. 130 или 131, в котором пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 меланому перед введением.

134. Способ увеличения показателя объективного ответа на лечение рака до уровня, превышающего 15%, в популяции пациентов-людей, каждый из которых имеет меланому, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль перед введением и где показатель объективного ответа выше чем 15%.

135. Способ увеличения показателя контроля заболевания для лечения рака до уровня, превышающего 70%, в популяции пациентов-людей, каждый из которых имеет меланому, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 и ингибитора пути PD-1, где каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 меланому перед введением и где показатель объективного ответа выше чем 70%.

136. Способ по п. 134 или п. 135, дополнительно включающий идентификацию каждого пациента из популяции пациентов как имеющего положительную по LAG-3 меланому перед введением.

137. Способ по любому одному из пп. 134-136, в котором медианная продолжительность ответа составляет ≥ 3 месяцев, ≥ 6 месяцев, ≥ 12 месяцев или ≥ 18 месяцев.

138. Способ по любому одному из пп. 134-137, в котором каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 меланому перед введением.

139. Способ по любому одному из пп. 134-137, в котором каждый пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 отрицательную по PD-L1 меланому перед введением.

140. Способ по любому одному из пп. 124-139, в котором меланома является рефрактерной к лечению ингибитором контрольных точек иммунного ответа.

141. Способ по любому одному из пп. 124-140, в котором меланома является рефрактерной к лечению антителом против PD-1 или антителом против PD-L1.

142. Способ по любому одному из пп. 1-141, в котором определение уровня экспрессии LAG-3 и/или PD-L1 включает предоставление образца тестируемой ткани, полученного от пациента, причем образец тестируемой ткани содержит опухолевые клетки и/или инфильтрирующие опухоль иммунные клетки.
143. Способ по п. 142, в котором образец исследуемой ткани представляет собой биопсию опухоли.
144. Способ по п. 142 или п. 143, в котором образец тестируемой ткани представляет собой зафиксированный формалином и погруженный в парафин (FFPE) образец.
145. Способ по любому одному из пп. 1-144, в котором определение включает обнаружение белка LAG-3 и/или PD-L1 или экспрессии РНК в образце исследуемой ткани.
146. Способ по п. 145, в котором экспрессию LAG-3 и/или PD-L1 обнаруживают с помощью анализа, способного детектировать уровень белка LAG-3 и/или PD-L1 соответственно в образце тестируемой ткани.
147. Способ по п. 142, в котором экспрессию LAG-3 и/или PD-L1 обнаруживают с помощью иммуногистохимического анализа.
148. Способ по п. 147, в котором иммуногистохимический анализ представляет собой моноплексный анализ.
149. Способ по п. 147, в котором иммуногистохимический анализ представляет собой мультиплексный анализ.
150. Способ по любому одному из пп. 147-149, в котором иммуногистохимический анализ включает контактирование образца опухоли с моноклональным антителом против LAG-3 человека 17B4, SP346, 11E3, 874501 или EPR4392(2).
151. Способ по любому одному из пп. 147-149, в котором иммуногистохимический анализ включает контактирование образца опухоли с антителом против LAG-3,

содержащим переменные области тяжелой и легкой цепи, содержащие последовательности, приведенные в SEQ ID NO:3 и 5 соответственно.

152. Способ по любому одному из пп. 145-151, в котором в иммуногистохимическом анализе используются черный или коричневый хромоген.

153. Способ по любому одному из пп. 145-151, в котором в иммуногистохимическом анализе используется красный хромоген.

154. Способ по любому одному из пп. 145-151, в котором в иммуногистохимическом анализе используется синий хромоген.

155. Способ по любому одному из пп. 145-151, в котором в иммуногистохимическом анализе используется зеленый хромоген.

156. Способ по любому одному из пп. 145-151, в котором в иммуногистохимическом анализе используется пурпурный хромоген.

157. Способ по любому одному из пп. 145-156, в котором иммуногистохимический анализ оценивается при небольшом увеличении.

158. Способ по п. 145, в котором небольшое увеличение составляет около 20X.

159. Способ по любому одному из пп. 145-156, в котором иммуногистохимический анализ оценивается при большом увеличении.

160. Способ по п. 159, в котором большое увеличение составляет около 40X.

161. Способ по любому одному из пп. 145-160, в котором иммуногистохимический анализ оценивается с помощью программного обеспечения для анализа изображений.

162. Способ по любому одному из пп. 145-160, в котором иммуногистохимический анализ оценивается по визуальной иммунологической оценке патолога.

163. Способ по любому одному из пп. 145-160, в котором иммуногистохимический анализ оценивается вручную.

164. Способ по любому одному из пп. 145-163, в котором оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3, и/или оценку доли клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют PD-L1.

165. Способ по любому одному из пп. 145-163, в котором оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли опухолевых клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3, и/или оценку доли опухолевых клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют PD -L1.

166. Способ по любому одному из пп. 145-163, в котором оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли иммунных клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3, и/или оценку доли иммунных клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют PD -L1.

167. Способ по любому одному из пп. 145-163, в котором оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3, и/или оценку доли Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют PD -L1.

168. Способ по любому одному из пп. 145-163, в котором оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли CD8+ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3, и/или оценку доли CD8+ Т-клеток в образце тестируемой ткани, который экспрессируют PD-L1.

169. Способ по любому одному из пп. 145-163, в котором оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли CD4+ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3, и/или оценку доли CD4+ Т-клеток в образце тестируемой ткани, который экспресс PD-L1.

170. Способ по любому одному из пп. 145-163, в котором оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли FOXP3+ Т-клеток в образце

тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3, и/или оценку доли FOXP3+ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют PD-L1.

171. Способ по любому одному из пп. 145-170, в котором клетки с частичной мембранной/цитоплазматической локализацией LAG-3 оценивают как клетки, экспрессирующие LAG-3.

172. Способ по любому одному из пп. 145-170, в котором клетки с точечной локализацией LAG-3 оценивают как клетки, экспрессирующие LAG-3.

173. Способ по любому одному из пп. 145-170, в котором клетки с полной мембранной/цитоплазматической локализацией LAG-3 оценивают как клетки, экспрессирующие LAG-3.

174. Способ по любому одному из пп. 145-170, в котором клетки с любым паттерном локализации LAG-3 оценивают как клетки, экспрессирующие LAG-3.

175. Способ по любому одному из пп. 145-174, в котором иммуногистохимический анализ представляет собой мультиплексный анализ, который дополнительно включает обнаружение экспрессии МНС Класса II опухолевыми клетками.

176. Способ по любому одному из пп. 145-175, в котором оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют МНС Класса II.

177. Способ по любому одному из пп. 145-175, в котором оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли неиммунных клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют МНС II.

178. Способ по п. 144, в котором экспрессию белка LAG-3 и/или PD-L1 обнаруживают проточной цитометрией.

179. Способ по п. 178, в котором образец тестируемой ткани, полученный от пациента, содержит инфильтрирующие опухоль иммунные клетки.

180. Способ по п. 179, в котором злокачественная опухоль представляет собой гематологическую злокачественную опухоль и образец ткани содержит циркулирующие лимфоциты.
181. Способ по любому одному из пп. 178-180, в котором проточная цитометрия представляет собой мультиплексный анализ.
182. Способ по п. 181, в котором проточная цитометрия включает обнаружение экспрессии маркеров, включающих LAG-3, PD-L1, CD4, CD8, FOXP3 и любую их комбинацию.
183. Способ по п. 182, в котором оценка проточной цитометрии включает оценку доли Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3.
184. Способ по п. 182, в котором оценка проточной цитометрии включает оценку доли CD8+ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3.
185. Способ по п. 182, в котором оценка проточной цитометрии включает оценку доли CD4+ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3.
186. Способ по п. 182, в котором оценка проточной цитометрии включает оценку доли FOXP3+ Т-клеток в образце тестируемой ткани, которые экспрессируют LAG-3.
187. Способ по п. 143, в котором экспрессию LAG-3 и/или PD-L1 обнаруживают анализом, способным определять уровень, соответственно, РНК LAG-3 и/или PD-L1 в образце опухоли.
188. Способ по п. 187, в котором экспрессию LAG-3 и/или PD-L1 обнаруживают с помощью анализа на основе RT-PCR.
189. Способ по п. 134, в котором оценка на основе анализа RT-PCR включает оценку уровня экспрессии РНК LAG-3 и/или PD-L1 в образце тестируемой ткани относительно предварительно определенного уровня.

190. Способ по любому одному из пп. 1-189, в котором ингибитор LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающий фрагмент.

191. Способ по п. 190, в котором антитело против LAG-3 представляет собой биспецифическое антитело.

192. Способ по п. 190 или 191, в котором антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит (а) переменную область CDR1 тяжелой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:7; (b) переменную область CDR2 тяжелой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:8; (c) переменную область CDR3 тяжелой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:9; (d) переменную область CDR1 легкой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:10; (e) переменную область CDR2 легкой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:11; и (f) переменную область CDR3 легкой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:12.

193. Способ по любому одному из пп. 190-192, в котором антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменные области тяжелой и легкой цепи, содержащие последовательности, приведенные в SEQ ID NO:3 и 5 соответственно.

194. Способ по п. 190, в котором антитело против LAG-3 представляет собой MK-4280 (28G-10), REGN3767, GSK2837781, IMP731 (H5L7BW), BAP050, IMP-701 (LAG-525), IMP321, FS-118, Sym022, TSR-033, MGD013, FS118 или GSK2831781.

195. Способ по любому одному из пп. 1-194, в котором ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент.

196. Способ по п. 195, в котором антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит (а) переменную область CDR1 тяжелой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:23; (b) переменную область CDR2 тяжелой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:24; (c) переменную область CDR3 тяжелой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:25; (d) переменную область CDR1 легкой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:26; (e) переменную

область CDR2 легкой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:27; и (f) вариабельную область CDR3 легкой цепи, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO:28.

197. Способ по п. 196, в котором антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельные области тяжелой и легкой цепи, содержащие последовательности, приведенные в SEQ ID NO:19 и 21 соответственно.

198. Способ по п. 197, в котором антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелые и легкие цепи, содержащие последовательности, приведенные в SEQ ID NO:17 и 18 соответственно.

199. Способ по п. 195, где антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб (KEYTRUDA; MK-3475), пидилизумаб (CT-011) или ниволумаб (OPDIVO; BMS-936558).

200. Способ по любому одному из пп. 1-194, в котором ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-L1 или его антигенсвязывающий фрагмент.

201. Способ по п. 200, в котором антитело против PD-L1 представляет собой атезолизумаб (Tecentriq или RG7446), дурвалумаб (Imfinzi или MEDI4736), авелумаб (Bavencio) или BMS-936559.

202. Способ по любому одному из пп. 1-194, в котором ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело против PD-L2 или его антигенсвязывающий фрагмент.

203. Способ по любому одному из пп. 1-194, в котором антитело против CTLA-4 представляет собой ипилимумаб или его антигенсвязывающий фрагмент.

204. Способ по любому одному из пп. 1-194, в котором ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой антагонист CTLA-4, антагонист CD80, антагонист CD86, антагонист Tim-3, антагонист TIGIT, антагонист CD20, антагонист CD96, антагонист IDO1, антагонист STING, антагонист GARP, антагонист CD40, антагонист A2aR, антагонист CEACAM1 (CD66a), антагонист CEA, антагонист CD47, антагонист PVRIG, антагонист TDO, антагонист VISTA или антагонист KIR.

205. Способ по любому одному из пп. 190-204, в котором способ включает по меньшей мере один цикл введения, где цикл представляет собой период в восемь недель, причем для каждого из по меньшей мере одного цикла четыре дозы антитела против LAG-3 вводят в дозе 3, 20, 80, 160 или 240 мг.

206. Способ по любому одному из пп. 190-205, в котором способ включает по меньшей мере один цикл введения, где цикл представляет собой период в восемь недель, причем для каждого из по меньшей мере одного цикла четыре дозы антитела против PD-1 вводят в дозе 80 или 240 мг.

207. Способ по любому одному из пп. 190-205, в котором способ включает по меньшей мере один цикл введения, где цикл составляет период в восемь недель, причем для каждого из по меньшей мере одного цикла четыре дозы антитела против PD-L1 вводят в дозе 3, 20, 80, 160 или 240 мг.

208. Способ по любому одному из пп. 190-207, в котором способ включает по меньшей мере один цикл введения, где цикл составляет период в восемь недель, причем для каждого из по меньшей мере одного цикла четыре дозы антитела против CTLA-4 вводят в дозе 3, 20, 80, 160 или 240 мг.

209. Способ по любому одному из пп. 190-208, в котором способ включает по меньшей мере один цикл введения, где цикл представляет собой период в восемь недель, причем для каждого из по меньшей мере одного цикла четыре дозы антитела против LAG-3 вводят в дозе 3, 20, 80, 160 или 240 мг, а четыре дозы антитела против PD-1 вводят в дозе 80 или 240 мг.

210. Способ по любому одному из пп. 190-209, в котором антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в следующих дозах: (a) 3 мг антитела против LAG-3 и 80 мг антитела против PD-1; (b) 3 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1; (c) 20 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1; (d) 80 мг антитела против LAG-3 и 160 мг антитела против PD-1; (e) 80 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1; (f) 160 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1 или (g) 240 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1.

211. Способ по п. 210, в котором антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в дозе 80 мг антитела против LAG-3 и 160 мг антитела против PD-1.
212. Способ по п. 210, в котором антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в дозе 80 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1.
213. Способ по п. 210, в котором антитело против LAG-3 и антитело против PD-1 вводят в дозе 160 мг антитела против LAG-3 и 240 мг антитела против PD-1.
214. Способ по любому одному из пп. 190-213, в котором антитела против PD-1 и против LAG-3 или их антигенсвязывающие фрагменты составляются для внутривенного введения.
215. Способ по любому одному из пп. 190-214, в котором антитела против PD-1 и против LAG-3 или их антигенсвязывающие фрагменты составляются вместе.
216. Способ по любому одному из пп. 190-214, в котором антитела против PD-1 и против LAG-3 или их антигенсвязывающие фрагменты составляются отдельно.
217. Способ по любому одному из пп. 205-216, в котором лечение состоит из вплоть до 12 циклов.
218. Способ по любому одному из пп. 205-217, в котором антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в Дни 1, 15, 29 и 43 каждого цикла.
219. Способ по любому одному из пп. 205-217, в котором антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в Дни 1, 15, 29 и 43 каждого цикла.
220. Способ по любому одному из пп. 205-217, в котором антитело против CTLA-4 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дни 1, 15, 29 и 43 каждого цикла.
221. Способ по любому одному из пп. 205-217, в котором антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят перед введением антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента.

222. Способ по любому одному из пп. 190-221, в котором антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в пределах около 30 минут перед введением антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента.
223. Способ по любому одному из пп. 190-222, в котором антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят после введения антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента.
224. Способ по любому одному из пп. 190-222, в котором антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят перед введением антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента.
225. Способ по любому одному из пп. 190-222, в котором антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят одновременно с антителом против LAG-3 или его антигенсвязывающим фрагментом.
226. Способ по любому одному из пп. 190-225, в котором антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающий фрагмент и ингибитор пути PD-1 вводят в качестве первой линии лечения.
227. Способ по любому одному из пп. 190-225, в котором антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающий фрагмент и ингибитор пути PD-1 вводят в качестве второй линии лечения.
228. Способ по любому одному из пп. 190-227, дополнительно включающий введение по меньшей мере одного дополнительного терапевтического агента.
229. Способ по п. 228, в котором по меньшей мере один дополнительный терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент.
230. Способ по п. 229, в котором по меньшей мере один дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор контрольных точек иммунного ответа.

231. Способ по любому одному из пп. 1-230, в котором способ обеспечивает по меньшей мере один терапевтический эффект, выбранный из уменьшения размера опухоли, уменьшения количества метастатических поражений с течением времени, полного ответа, частичного ответа и стабильного заболевания.

232. Способ по любому одному из пп. 1-231, в котором введение антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента и ингибитора пути PD-1 активирует Т-клетки пациента.

233. Способ по любому одному из пп. 1-232, в котором введение антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента и ингибитора пути PD-1 индуцирует маркеры активации экспрессии Т-клетками пациента.

234. Способ по любому одному из пп. 1-233, в котором введение антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента приводит к заполнению по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95% или около 100% рецепторов LAG-3 на Т-клетках пациента.

235. Способ по п. 234, в котором Т-клетки представляют собой CD8⁺ Т-клетки.

236. Способ по п. 234, где Т-клетки представляют собой инфильтрирующие опухоль Т-клетки.

237. Способ по любому одному из пп. 219-224, в котором ингибитор пути PD-1 содержит антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент.

238. Набор для лечения пациента, имеющего злокачественную опухоль, где набор содержит:

- (a) дозировку в диапазоне от около 0,1 до около 10 мг/кг массы тела антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента;
- (b) дозировку в диапазоне от около 0,1 до около 10 мг/кг массы тела антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента; и

(с) инструкции по применению антитела против LAG-3 и антитела против PD-1 или его антигенсвязывающих фрагментов в способе по любому одному из пп. 1-237.

239. Набор для лечения пациента, имеющего злокачественную опухоль, где набор содержит:

- (а) дозировку в диапазоне от около 0,1 до около 10 мг/кг массы тела антитела против PD1;
- (b) дозировку ингибитора контрольных точек иммунного ответа; и
- (с) инструкции по применению антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента и ингибитора контрольных точек иммунного ответа в способе по любому одному из пп. 1-237.

240. Набор для лечения пациента, имеющего злокачественную опухоль, где набор содержит:

- (а) дозировку в диапазоне от около 0,1 до около 10 мг/кг массы тела антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента; и
- (b) инструкции по применению антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента в способе по любому одному из пп. 1-237.

241. Набор для лечения пациента, имеющего злокачественную опухоль, где набор содержит:

- (а) дозировку в диапазоне от 0,1 до 10 мг/кг массы тела антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента; и
- (b) инструкции по применению антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента в способе по любому одному из пп. 1-237.

242. Способ идентификации пациента, который является рефрактерным к лечению антагонистом PD-1, включающий определение уровня экспрессии LAG-3, где повышенный уровень экспрессии LAG-3 после лечения антагонистом PD-1 относительно уровню экспрессии LAG-3 до лечения антагонистом PD-1 указывает на то, что пациент является рефрактерным к терапии антагонистом PD-1.

243. Способ идентификации пациента, который может стать рефрактерным к лечению антагонистом PD-1, включающий определение уровня экспрессии LAG-3, где повышенный уровень экспрессии LAG-3 после лечения антагонистом PD-1

относительно уровню экспрессии LAG-3 до лечения антагонистом PD-1 указывает на то, что у пациента есть риск стать рефрактерным к терапии антагонистом PD-1.

244. Способ идентификации пациента, который может ответить на терапию LAG-3, включающий определение уровня экспрессии LAG-3 у пациента, где повышенный уровень экспрессии LAG-3 после лечения антагонистом PD-1 относительно уровня экспрессии LAG-3 до лечения антагонистом PD-1 указывает на то, что пациент может ответить на терапию LAG-3.

245. Способ выбора пациента для лечения терапией LAG-3, включающий определение уровня экспрессии LAG-3 у пациента, где повышенный уровень экспрессии LAG-3 после лечения антагонистом PD-1 относительно уровня экспрессии LAG-3 до лечения антагонистом PD-1 указывает на то, что пациент может ответить на терапию LAG-3.

246. Способ по любому одному из пп. 242-245, в котором антагонист PD-1 представляет собой ингибитор PD-1.

247. Способ по любому одному из пп. 242-245, в котором антагонист PD-1 представляет собой антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент.

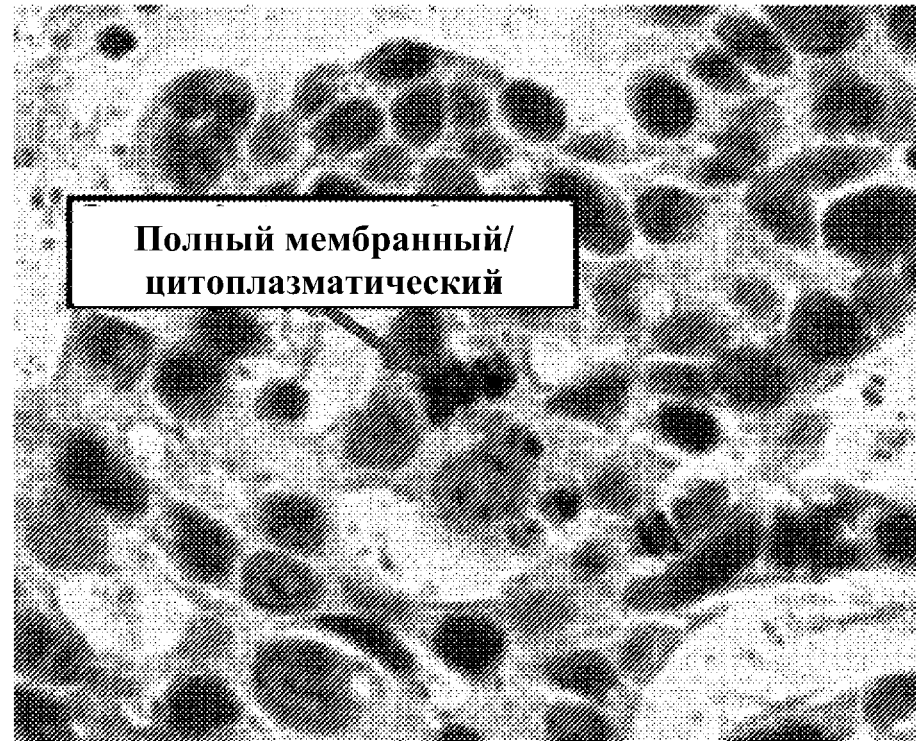
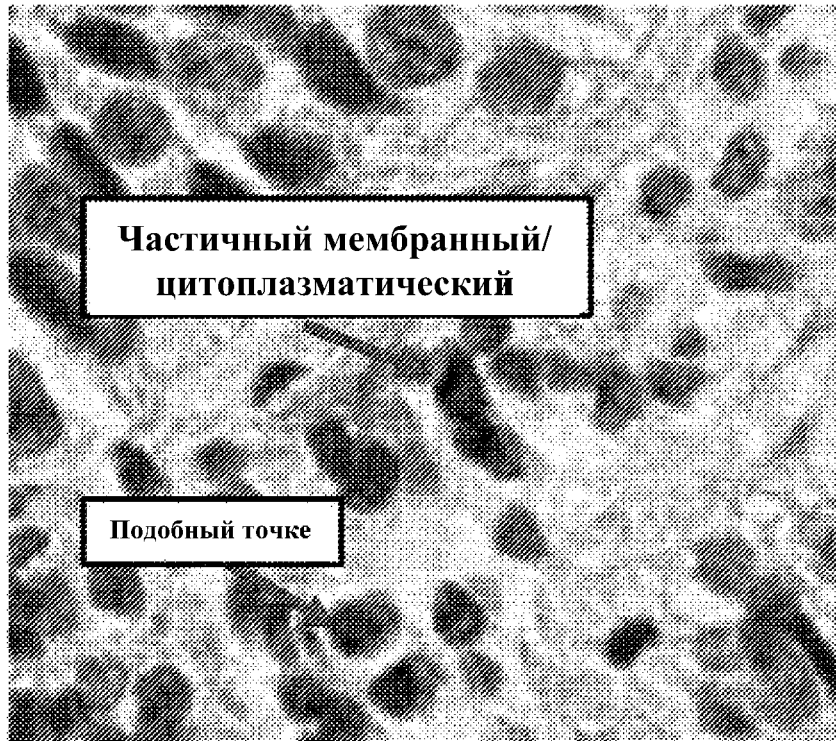
248. Способ по любому одному из пп. 244-245, в котором терапия LAG-3 представляет собой ингибитор LAG-3.

249. Способ по любому одному из пп. 244, 245 или 248, в котором терапия LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающий фрагмент.

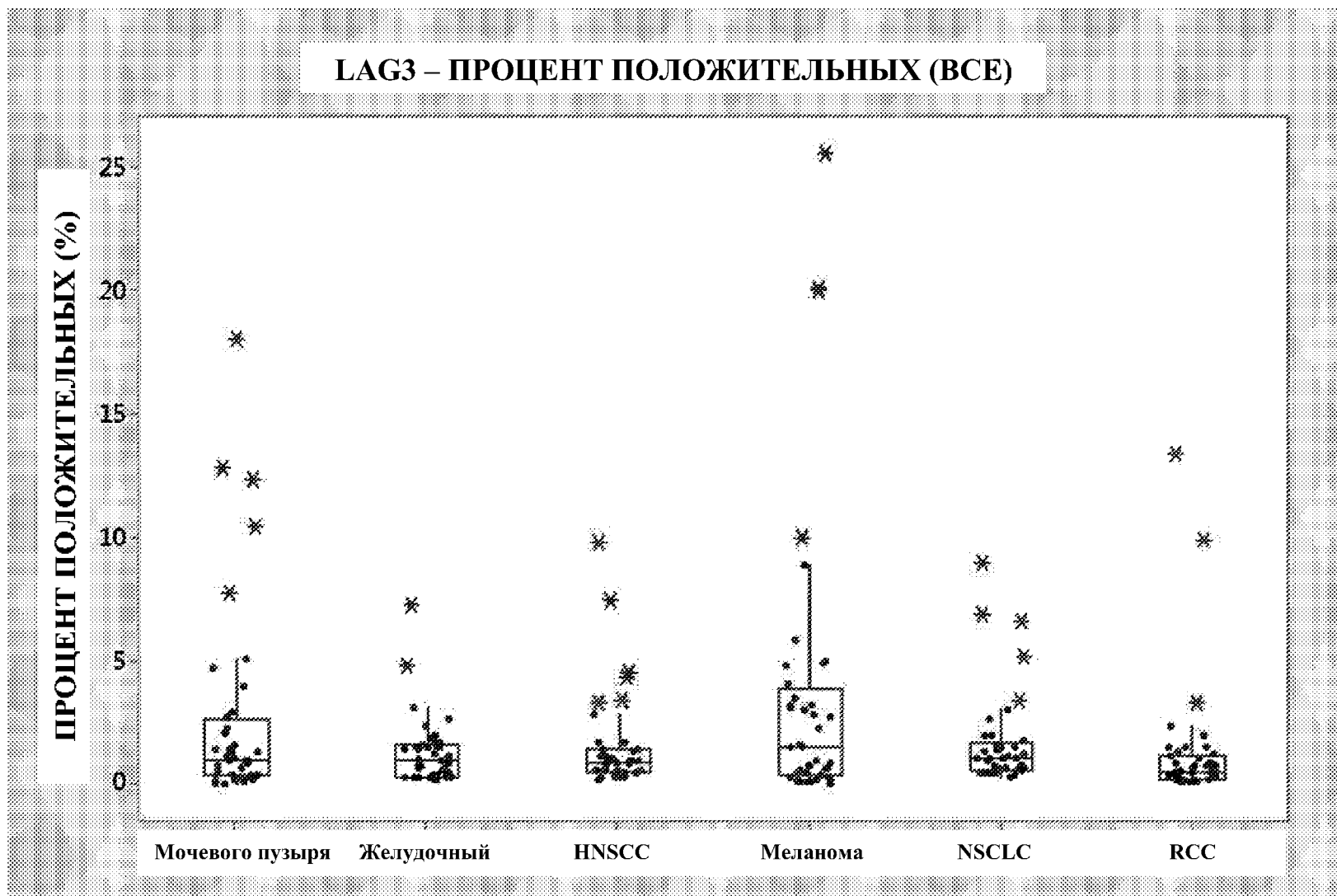
250. Способ по любому одному из пп. 244 или 245, в котором терапия LAG-3 представляет собой комбинированную терапию.

251. Способ по п. 250, в котором комбинированная терапия LAG-3 представляет собой комбинацию антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающего фрагмента и антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента.

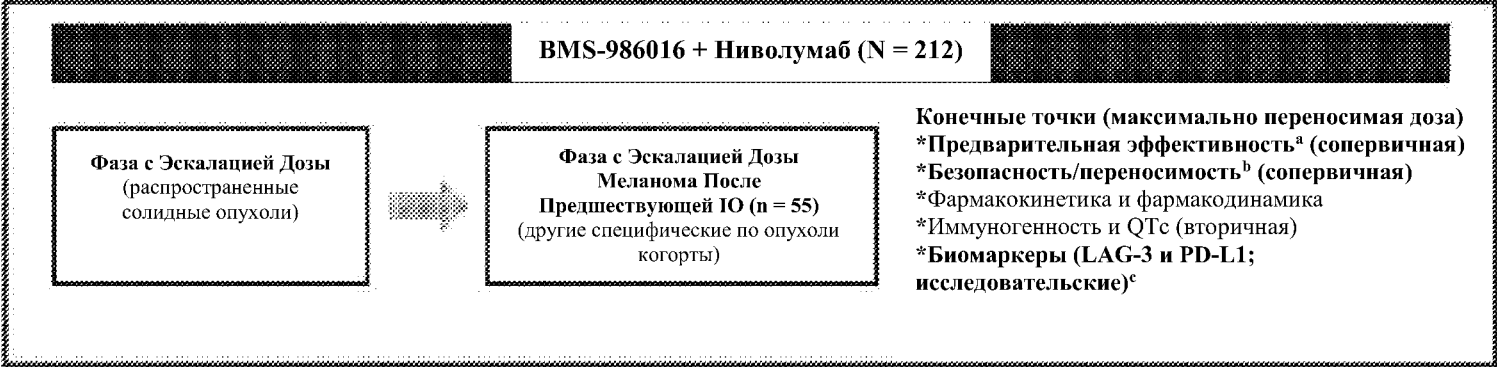
Фигура 1



Фигура 2



Фигура 3А



^aОпухолевый ответ, оцененный по Критериям Оценки Ответа при Солидных Опухолях (RECIST) v1.1¹⁰ (оценка исследователя). ^bБезопасность, оцененная по Общим Терминологическим Критериям для Неблагоприятных Явлений v.4.0¹¹ во время лечения и вплоть до 135 дней после прекращения. ^cЭкспрессия LAG-3 и PD-L1 (процент положительных клеток в пределах инвазивного региона, опухоли и стромы), оцененная с помощью иммуногистохимических (ИHC) анализов на фиксированных формалином погруженных в парафин срезах опухоли. Экспрессию LAG-3 иммунными клетками ($\geq 1\%$ или $< 1\%$) определяли с помощью мышиного клона антитела 17B4; экспрессию PD-L1 опухолевыми клетками ($\geq 1\%$ или $< 1\%$) определяли с помощью набора Dako 28-8 PD-L1 IHC 28-8.

Фигура 3В

Ключевые Критерии Включения для Пациентов в Расширенной Когорте Меланомы Предш.-ИО

Включение	Исключение
Возраст по меньшей мере 18 лет и ECOG PS ≤ 1	Предшествующее назначение ИО, отличающихся от терапии антителами против CTLA-4 и/или против PD-1/PD-L1 (напр., анти-PD-L2, анти-KIR, анти-CD137 и анти-OX40)
Распространенная (метастатическая и/или неоперабельная) меланома	Увеальная меланома
Прогрессирование на/ непереносимость ≥ 1 и ≤ 3 предшествующих стандартных режимов	Неконтролируемые метастазы в мозг
Требуется предшествующее лечение анти-PD-1/PD-L1 (ингибиторами $\pm$ анти-CTLA-4 $\pm$ BRAF $\pm$ MEK)	Активное аутоиммунное заболевание
Разрешена предшествующая адъювантная или неадъювантная терапия цитокинами (IL-2 или IFN) или антителами против CTLA-4	
По меньшей мере 1 измеряемое поражение по RECIST v.1.1 ¹⁰	

CD137, кластер дифференциации 137; CTLA-4, цитотоксический антиген-4 Т лимфоцитов; ECOG PS, общее состояние по Восточной Кооперативной Онкологической Группе; IFN, интерферон; IL-2, интерлейкин-2; KIR, подобный иммуноглобулину рецептор против клеток-киллеров.

Фигура 4

Таблица 1. Исходная Демография и Характеристики Заболевания

	Мел Предш. Ю (n = 55)
Средний возраст (диапазон), лет	59 (25–88)
< 65, n (%)	36 (65)
Мужчины, n (%)	29 (71)
Раса, n (%)	
Белые	52 (95)
Черные	1 (1.8)
Азиаты	1 (1.8)
Другие	1 (1.8)
ECOG PS, n (%)	
0	39 (69)
1	17 (31)
Стадия М на входе в исследование, n (%)	
M0	7 (13)
M1A	6 (11)
M1B	4 (7.3)
M1C с метастазами в мозг	1 (1.8)
M1C без метастаз в мозг	37 (67)
LDH, n (%)	
Нормальное	25 (45)
От нормального до < 2 x ULN	13 (24)
≥ 2 x ULN	8 (15)
Неизвестно	9 (16)
Метастазы в печени, n (%)	
Да	11 (20)
Нет	44 (80)
Статус BRAF, n (%)	
Мутация	21 (38)
Нет мутации	31 (56)
Неизвестно	3 (5.5)

М, Метастазы

Фигура 5

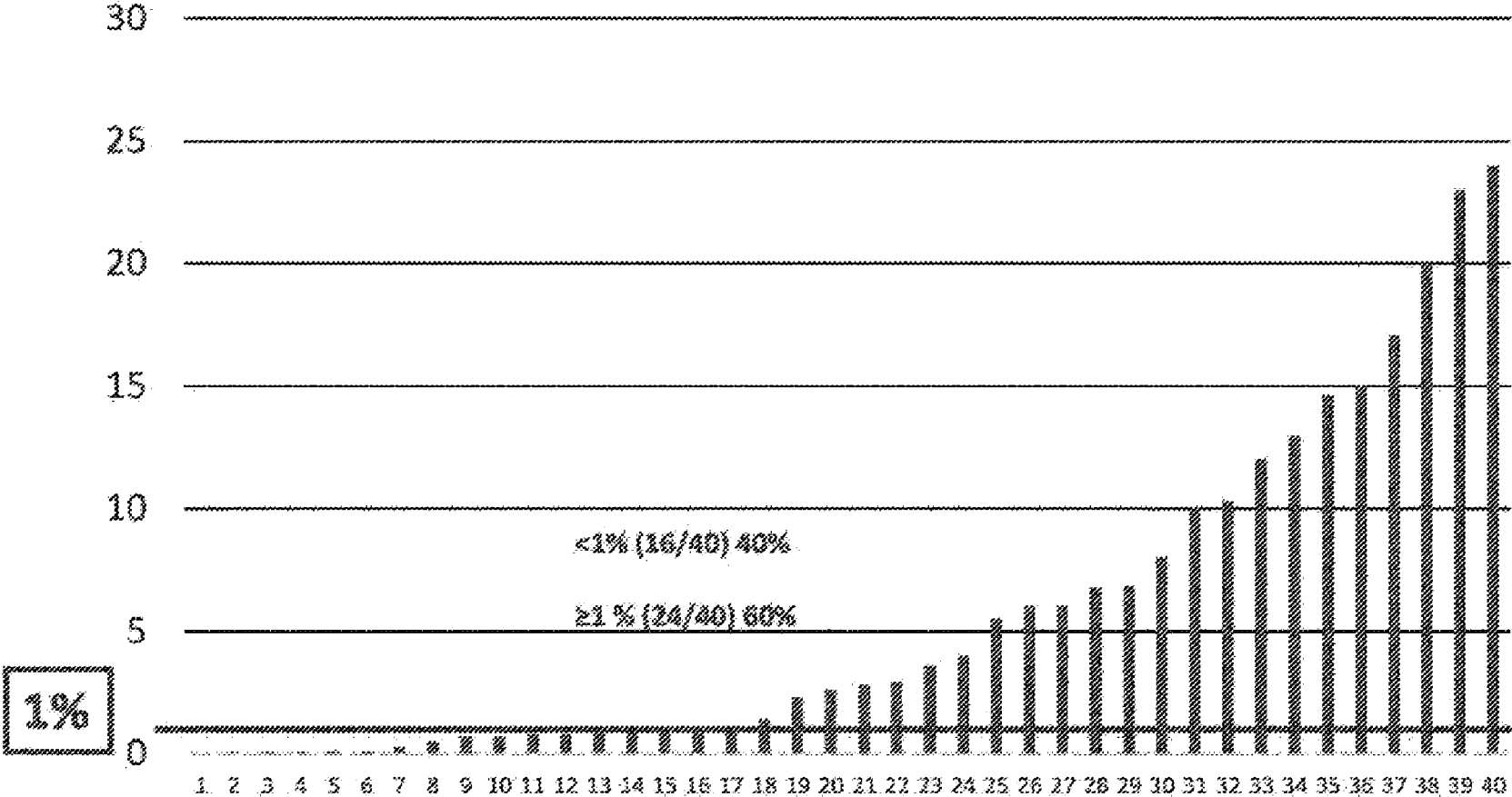
Таблица 2. Предшествующая Терапия

Пациенты, n (%)	Мел Предп. IO (n = 55)
Предшествующая радиотерапия	16 (29)
Предшествующая системная терапия	54 (98)
Иммунотерапия	54 (98)
Анти-CTLA-4 ^a	32 (58)
Анти-PD-1/PD-L1 ^b	52 (95)
Наилучший ответ на предшествующую анти-PD-1/PD-L1 ^c	
CR	1 (1.8)
PR	12 (22)
SD	16 (29)
PD	22 (40)
Ингибиторы BRAF	16 (29)
Ингибиторы MEK	11 (20)
Число системных режимов	
1	12 (22)
2	17 (31)
≥ 3	25 (45)
Среднее (диапазон)	2 (1-5)

CR, полный ответ, PR, частичный ответ, SD, стабильное заболевание, ^aДва пациента получали анти-PD-1/PD-L1 + анти-CTLA-4, 9 пациентов получали анти-CTLA-4 после анти-PD-1/PD-L1 и 29 пациентов получали анти-CTLA-4 перед анти-PD-1/PD-L1; о предшествующей терапии анти-CTLA-4 не сообщалось у 4 пациентов. ^bДвадцать пять пациентов получали ниволумаб, 25 пациентов получали пембролизумаб и 2 пациента получали другие терапии; 2 пациента не получали предшествующую анти-PD-1/PD-L1; о предшествующей анти-PD-1/PD-L1 не было известно у 1 пациента; ^cОб ответе у 1 пациента сообщалось как о непригодном.

Фигура 6

Моноплекс LAG-3 % Положительных: Первые 40 с Меланомой с
Предшествующей ИО



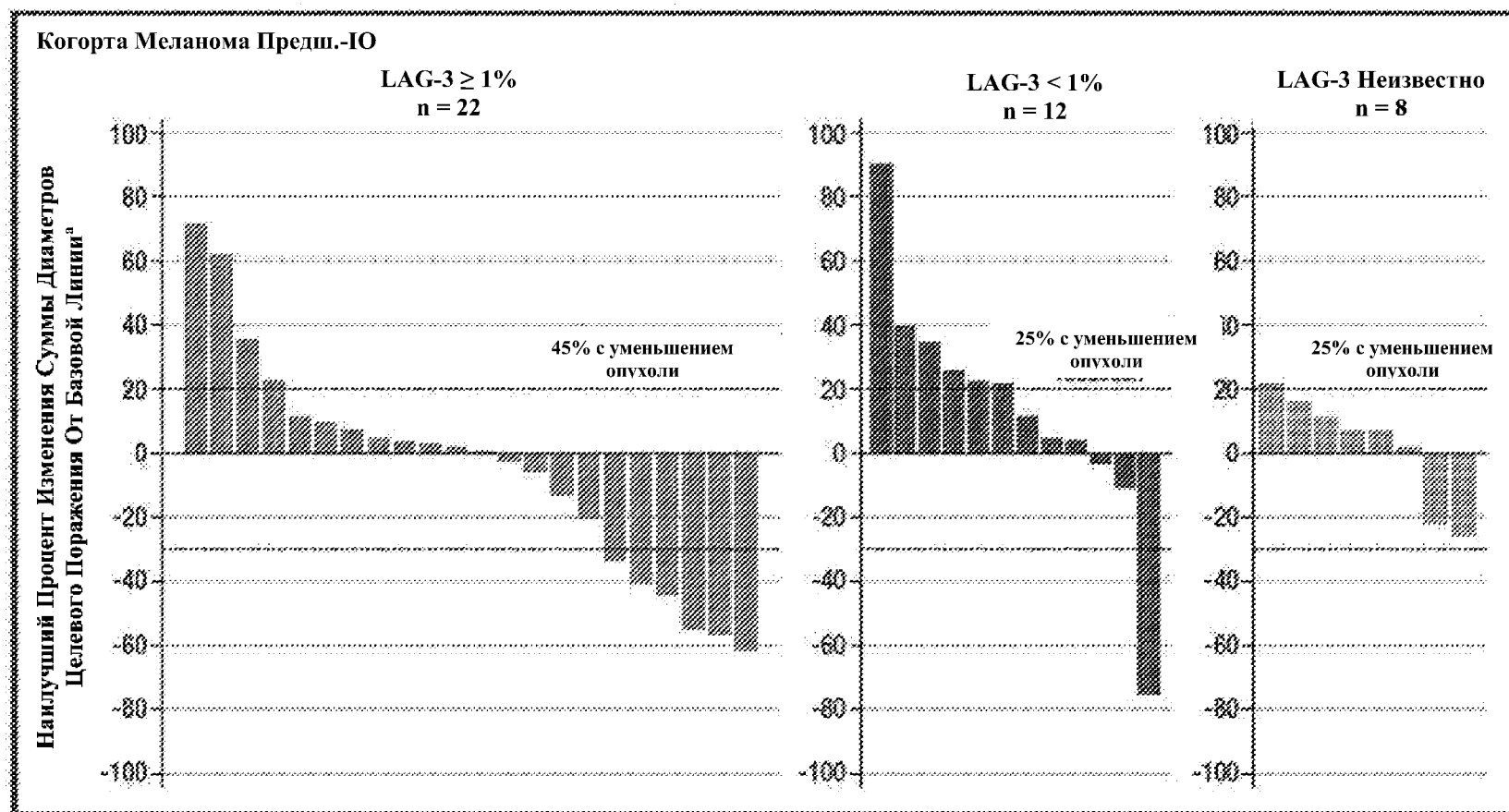
Фигура 7

Таблица 3. Предварительное Доказательство Противоопухолевой Активности

Пациенты, n (%)	Мел Предш. Ю (n = 48 ^a)
BOR	
CR	0
PR ^b	6 (13)
SD	20 (42)
PD	16 (33)
Клинические прогрессирования ^c	6 (13)
DRR, 95% OI ^b	6 (13), 4.7, 25
LAG-3 $\geq$ 1 % (n = 25)	5 (20), 6.8, 41
LAG-3 < 1 % (n = 14)	1 (7.1), 0.2, 34
DCR, (CR+PR+SD) ^b	26 (54)
LAG-3 $\geq$ 1 % (n = 25)	16 (64)
LAG-3 < 1 % (n = 14)	5 (36)

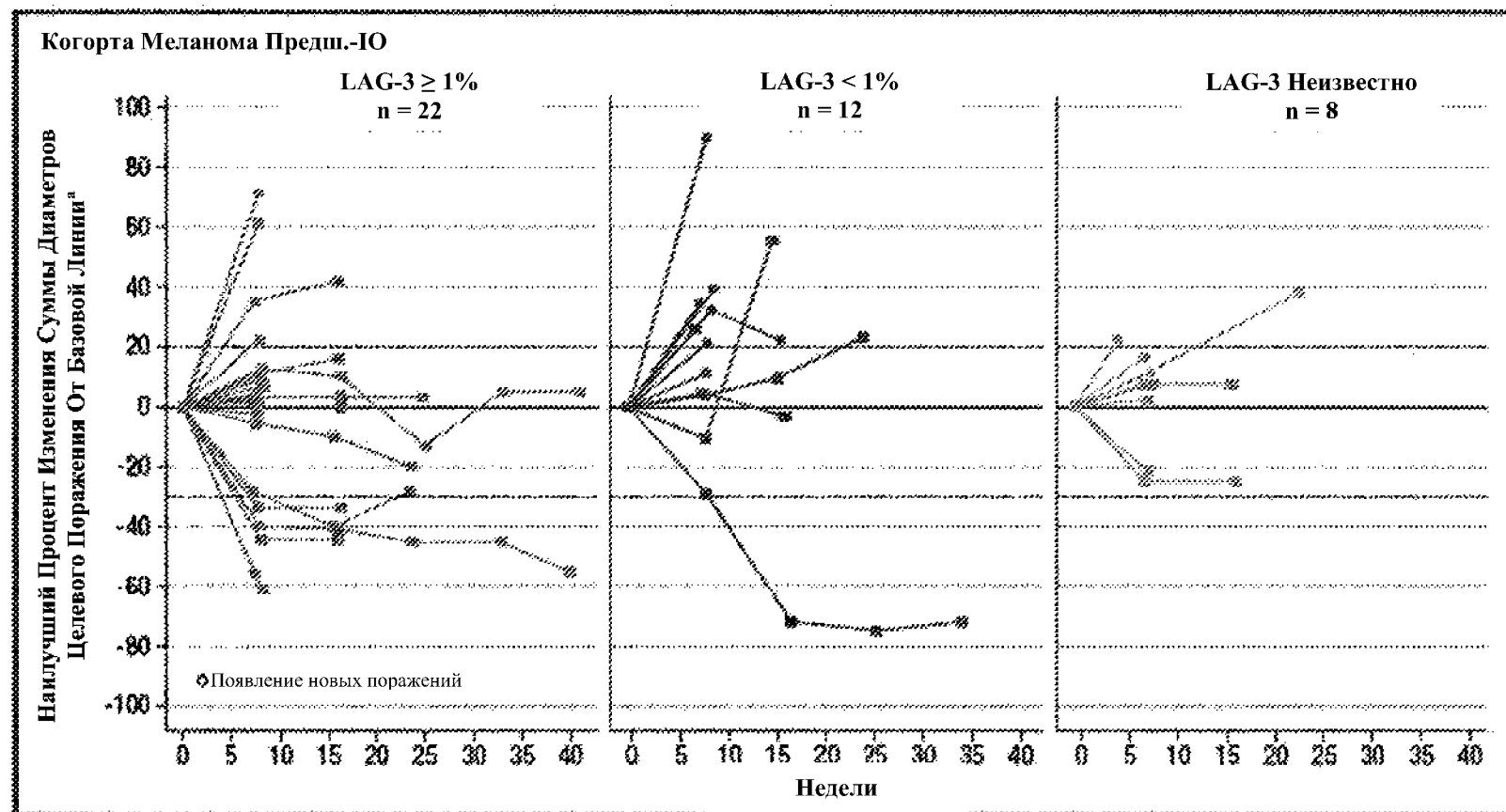
BOR, наилучший общий ответ; DCR, показатель контроля заболевания. ^aВсе пациенты с оцениваемым ответом; все прогрессировали на предшествующей терапии анти-PD-1/PD-L1. ^bДва ответа были не подтверждены. Произошло до первого радиологического скана.

Фигура 8



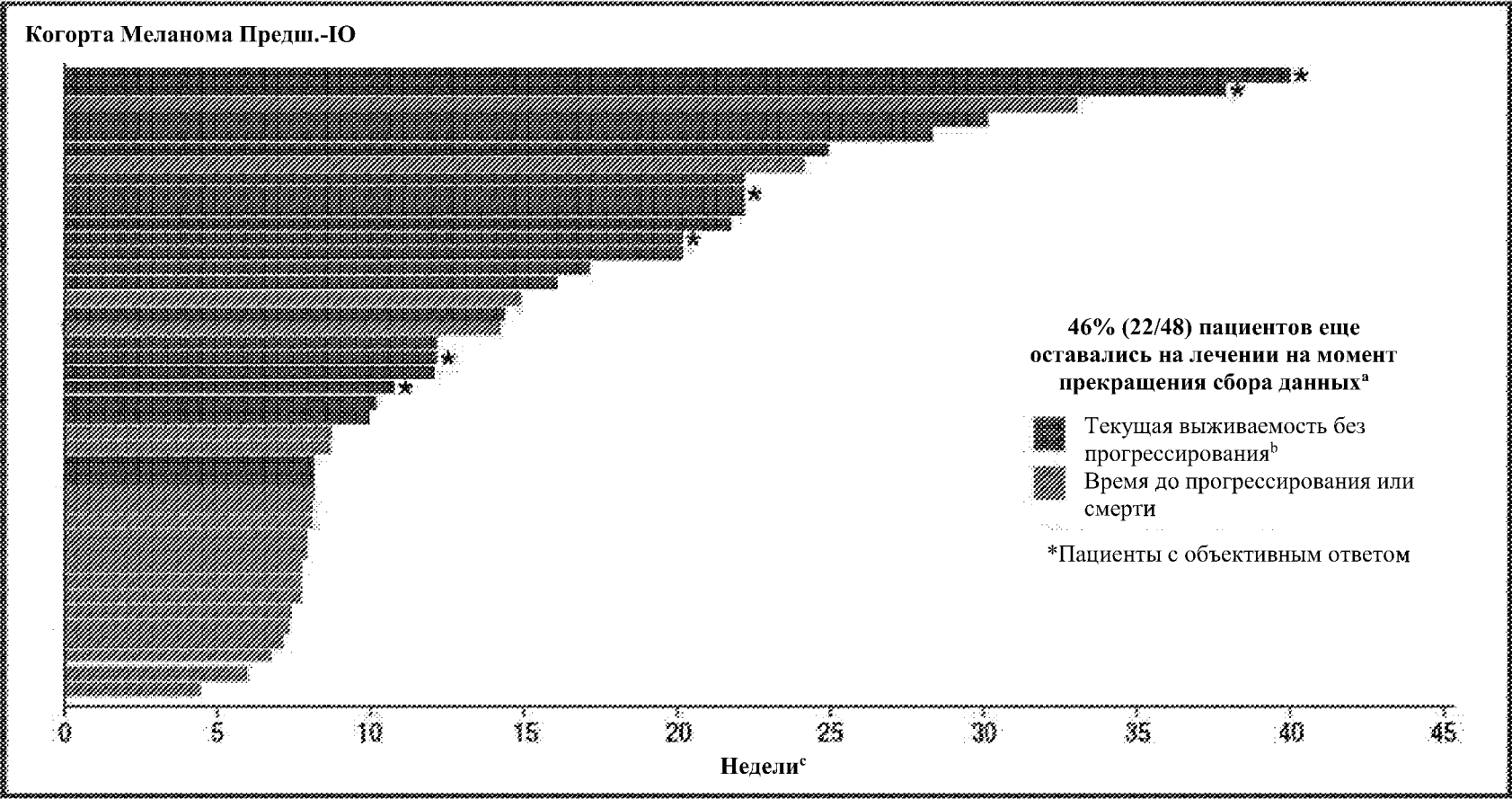
^aШесть пациентов имели клиническое прогрессирование перед их первым сканом и не были включены в график. Один пациент с наилучшим изменением от базовой линии > 30% имел неподтвержденный наилучший ответ SD.

Фигура 9



^aШесть пациентов имели клиническое прогрессирование перед их первым сканом и не были включены в график.

Фигура 10



^aШесть пациентов имели клиническое прогрессирование перед их первым сканом и не были включены в график. ^bЦензурированы на последнем визите. ^cОценки запланированы каждые 8 недель.

Фигура 11

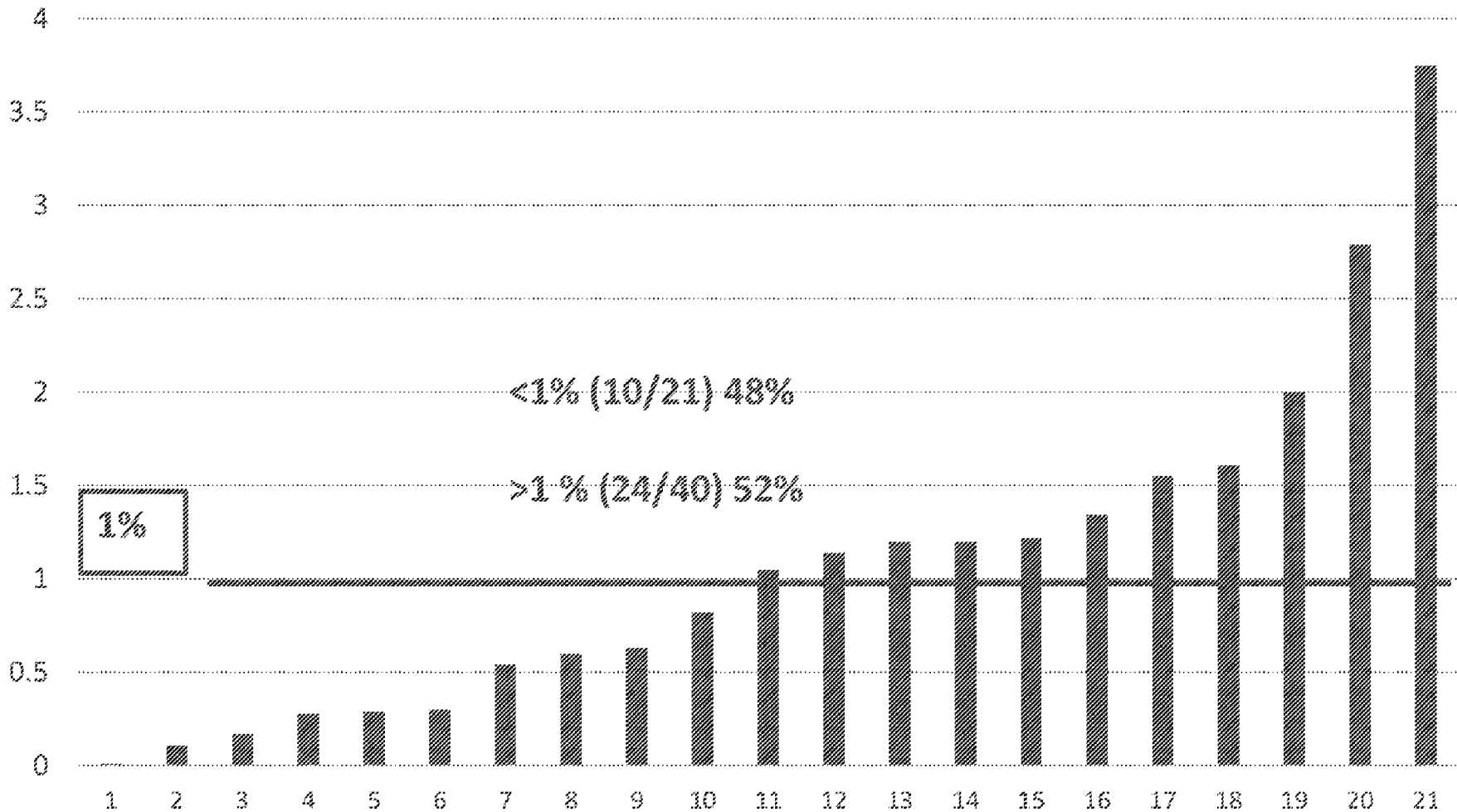
Таблица 4. Ответ по Исходным Характеристикам (оценка исследователя)

	Мел Предп. IO (n = 48 ^a)		
	BOR		
	n	n (%)	95% CI
Экспрессия LAG-3			
≥ 1%	25	5 (20)	0.8, 41
< 1%	14	1 (1.7)	0.2, 34
Экспрессия PD-L1			
≥ 1%	16	2 (13)	1.6, 38
< 1%	19	4 (21)	6.1, 46
Ответ на основе предшествующего BOR только в отношении анти-PD-1/PD-L1			
CR	1	0	–
PR	12	2 (17)	–
SD	14	1 (7.1)	–
CR + PR + SD	27	3 (11)	2.4, 29
PD	20	2 (10)	1.2, 32
Стадия M на входе в исследование			
M1A	8	1 (17)	0.4, 84
M1B	3	0	0, 71
M1C с метастазами в мозг	1	0	0, 97.5
M1C без метастаз в мозг	32	4 (13)	3.5, 29
Метастазы в печени			
Да	11	1 (9.1)	0.2, 41
Нет	37	5 (14)	4.5, 29
Статус BRAF			
Мутация	19	0	0, 18
Нет мутации	28	6 (21)	8.3, 41

^aВсе оцениваемые по ответу пациенты; все прогрессировали на предшествующей терапии анти-PD-1/PD-L1.

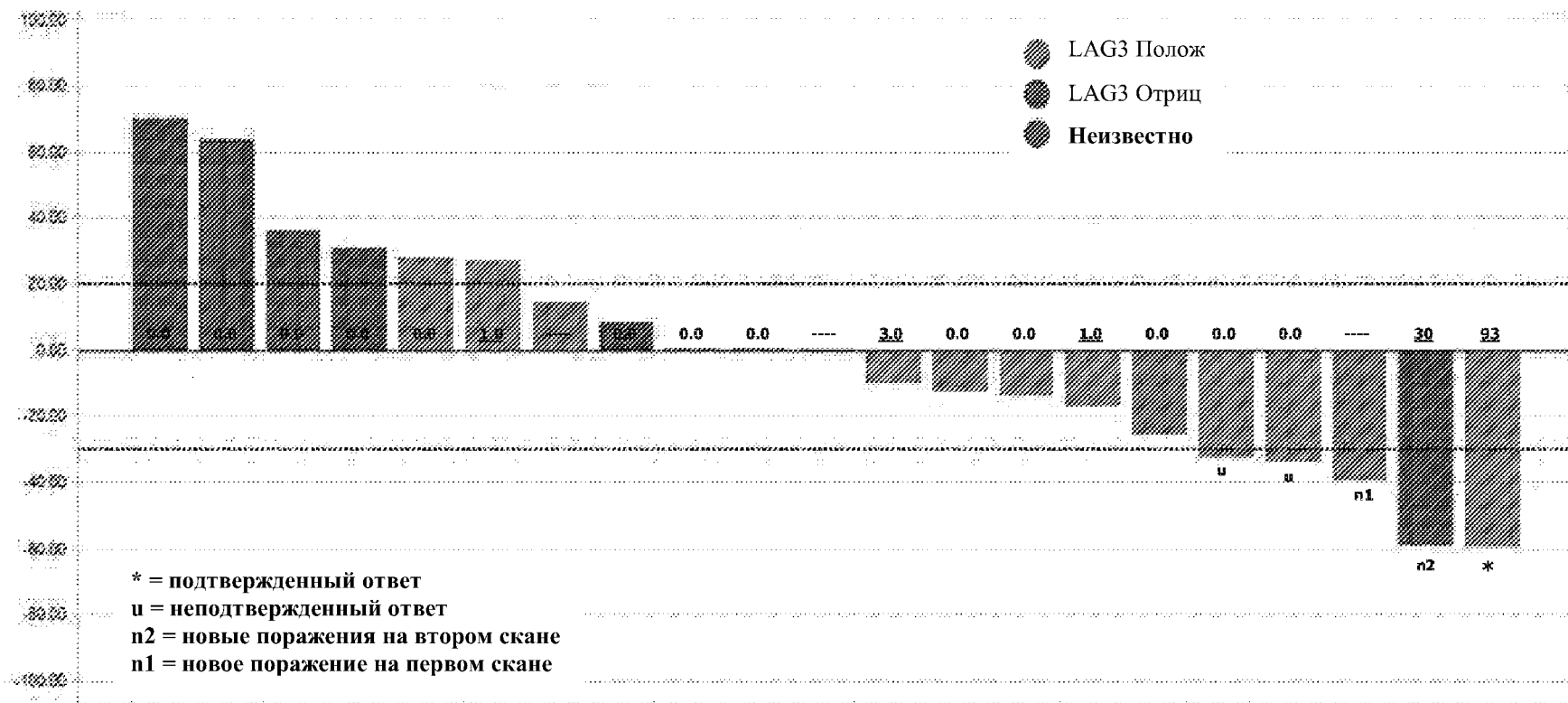
Фигура 12

Окрашивание Желудочных LAG-3 у Первого 21 Субъекта



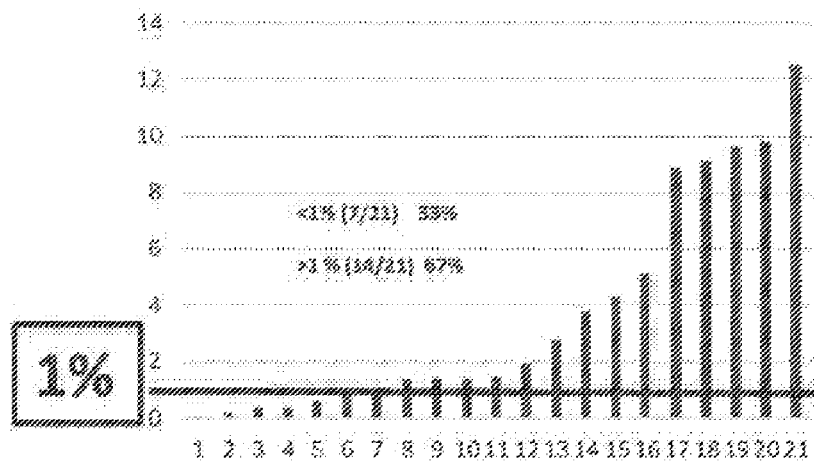
Фигура 13

Предварительная Клиническая Активность LAG-3 + ниво
у Не Получавших Ю Желудочных Пациентов
Пациентов с LAG+

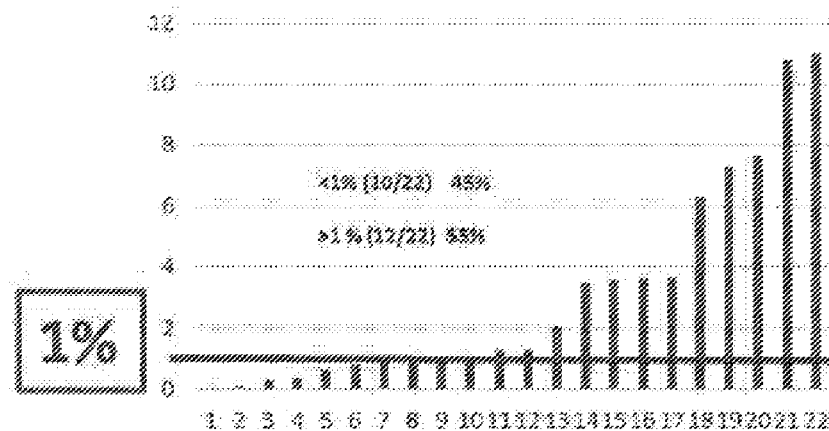


Фигура 14

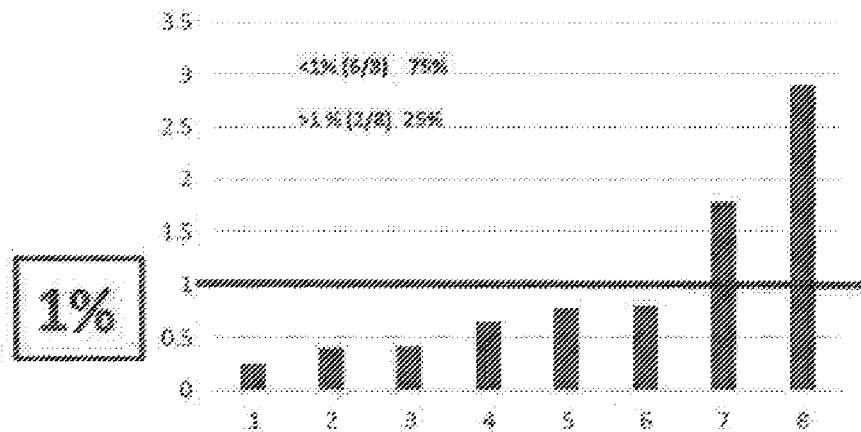
Первый 21 Пациент с SCCN



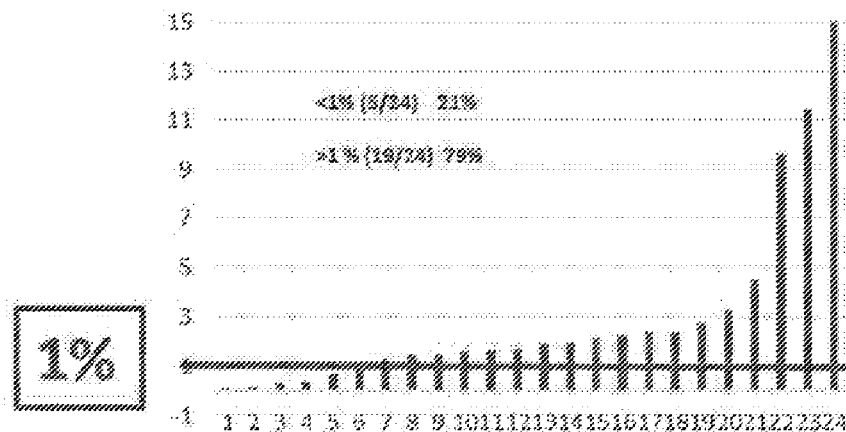
Первые 22 Пациента с Почечным LAG



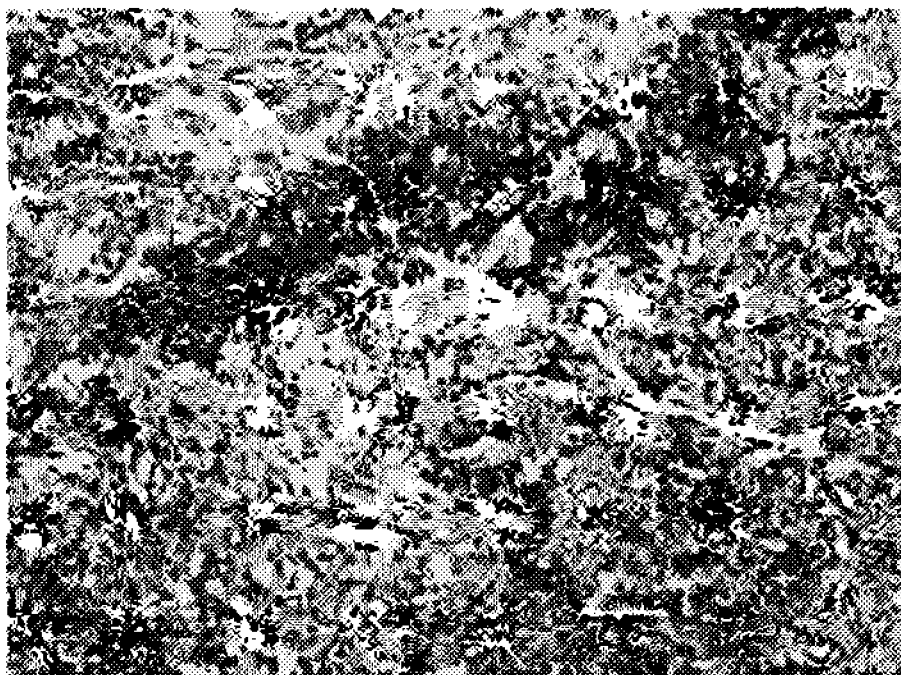
Первые 8 Субъектов с НСС



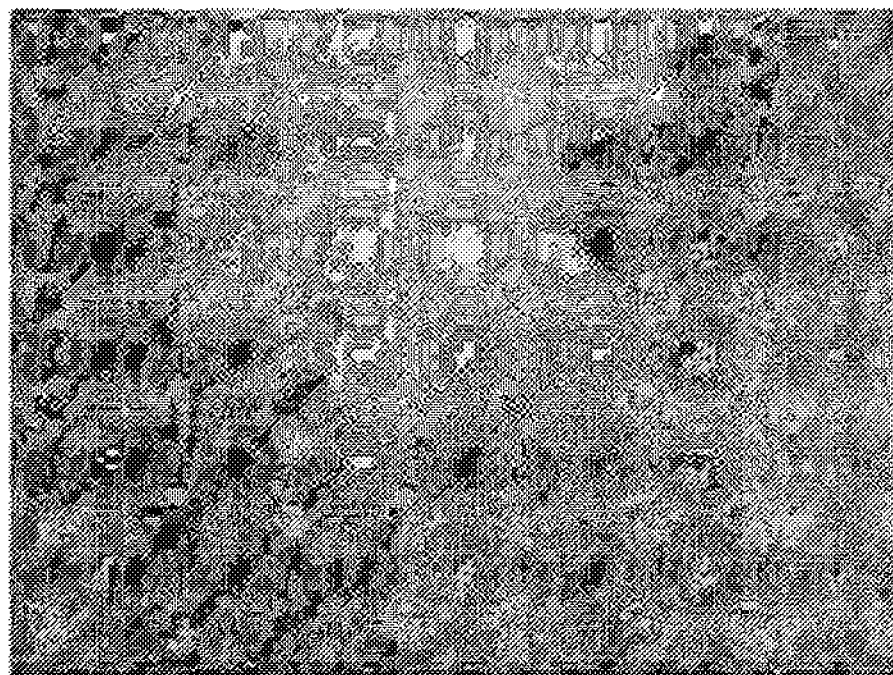
Первые 24 Субъекта с NSCLC



Фигура 15А

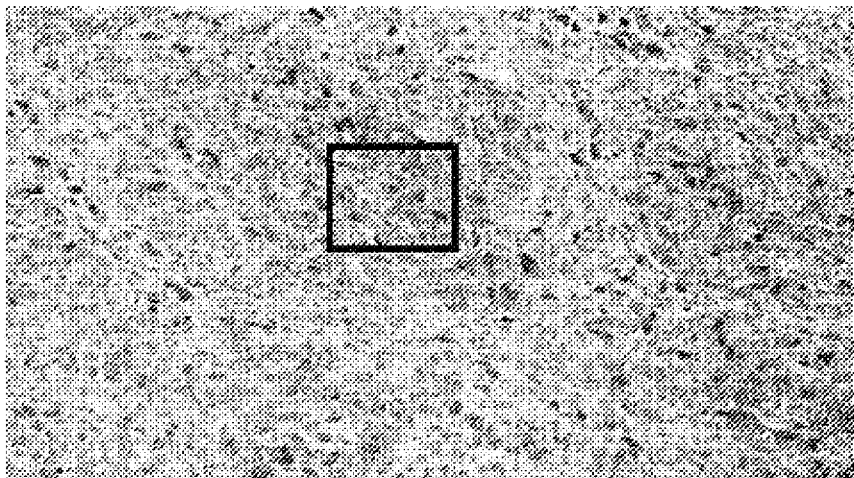


Пигментированная меланома без отбеливания
(ядра контрокрашены гематоксилином)

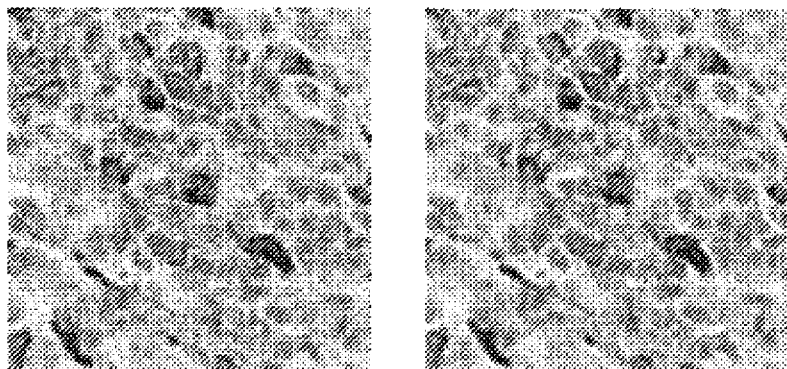


Пигментированная меланома после отбеливания
(ядра контрокрашены гематоксилином)

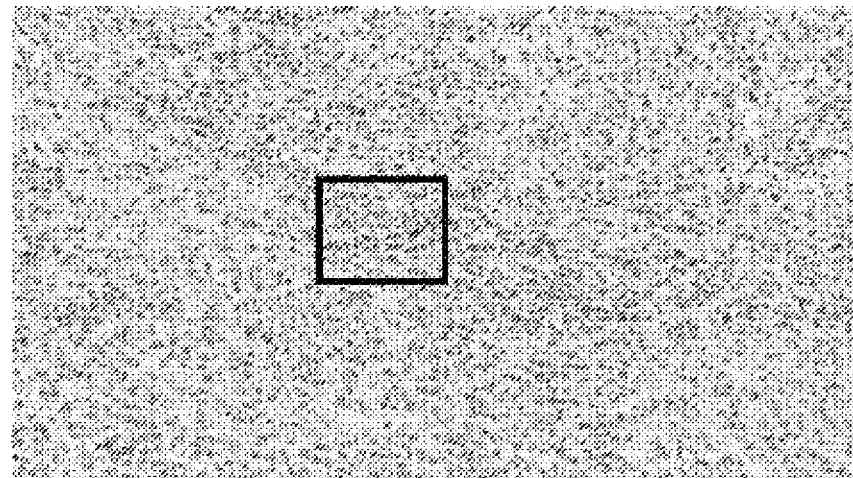
Фигура 15В



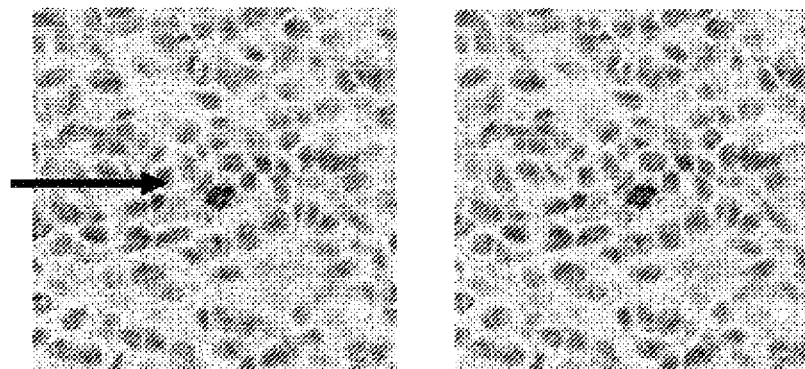
Пигментированная меланома – LAG-3 по ИHC
без отбеливания
(ядра контрокрашены гематоксилином)



LAG-3 ИHC неотличимый от меланина



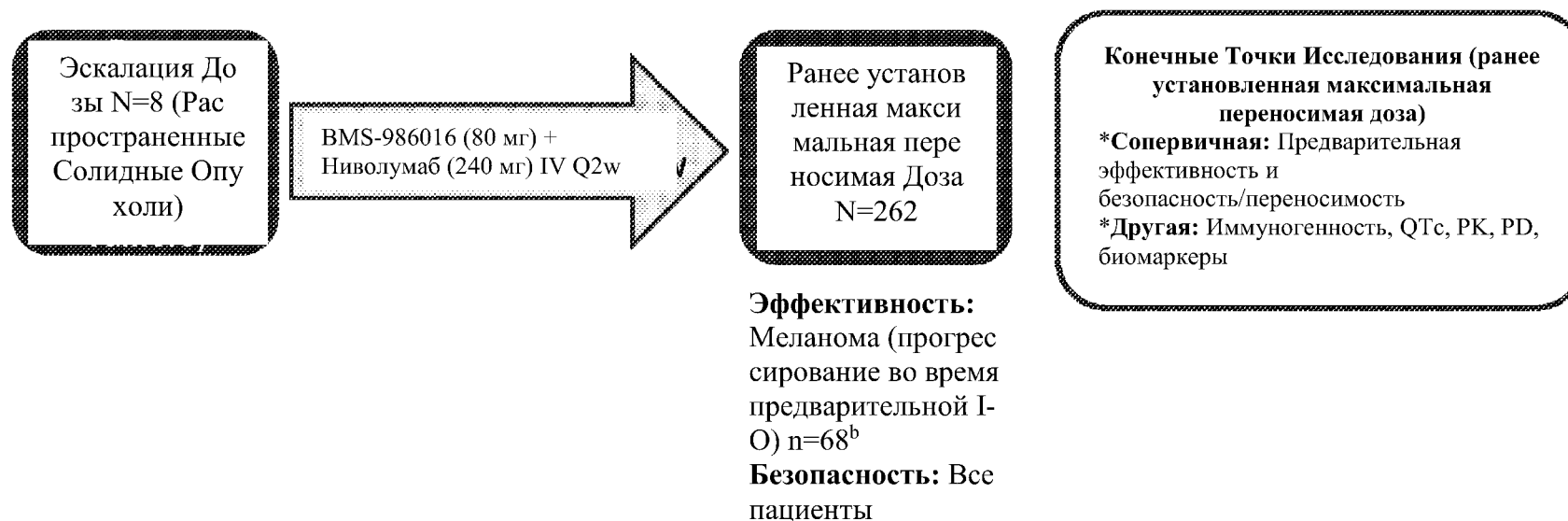
Пигментированная меланома – LAG-3 по ИHC
после отбеливания
(ядра контрокрашены гематоксилином)



LAG-3 ИHC после отбеливания

Фигура 16

Обоснование и дизайн исследования



^bШестьдесят один пациент был с определяемым ответом

Фигура 17

Исходная Демография и Характеристики Заболевания

	Мел Предш. PD-(L)1 n=68
Средний возраст (диапазон), лет	60 (25–81)
< 65 лет, n (%)	44 (65)
Мужчины, n (%)	46 (68)
Раса, n (%)	
Белые	65 (96)
Другие	3 (4.4)
ECOG PS, n (%)	
0	44 (65)
1	24 (35)
М стадия на входе в исследование, n (%)	
M0	6 (8.8)
M1A	7 (10)
M1B	8 (12)
M1C с метастазами в мозг	1 (1.5)
M1C без метастаз в мозг	46 (68)

	Мел Предш. PD-(L)1 n=68
LDH, n (%)	
Нормальный	35 (51)
Нормальный до < 2 x ULN	15 (22)
≥ 2 x ULN	9 (13)
Неизвестно	9 (13)
Метастазы в печень, n (%)	
Нет	51 (75)
Есть	17 (25)
Статус <i>BRAF</i> , n (%)	
Нет мутации	43 (63)
Мутация	23 (34)
Неизвестно	2 (2.9)

ECOG PS, показатель состояния согласно Восточной Кооперативной Онкологической Группе; LDH, лактатдегидрогеназа; М, метастазы; Мел Предш. PD-(L)1, пациенты с меланомой, прогрессирующие во время предшествующей терапии анти-PD-1/PD-L1; ULN, верхний предел нормы.

Фигура 18

Предшествующие Терапии

	Мел Предш. PD-(L)1 n=68
Предшествующая радиотерапия, n (%)	19 (28)
Предшествующая системная терапия, n (%)	68 (100)
Иммунотерапия	68 (100)
Анти-CTLA-4 ^a	39 (57)
Анти-PD-1/PD-L1 ^b	68 (100)
Наилучший ответ на предшествующую анти-PD-1/PD-L1 ^c	
CR	1 (1.5)
PR	12 (18)
SD	20 (29)
PD	31 (46)
Ингибиторы BRAF	19 (28)
Ингибиторы MEK	13 (19)
Количество системных режимов	
1	16 (24)
2	21 (31)
≥3	31 (46)
Среднее (диапазон)	2 (1-5)

CR, полный ответ; CTLA-4, цитотоксический Т лимфоцитарный антиген-4;

PD, прогрессирующее заболевание; PR, частичный ответ; SD, стабильное заболевание.

^aЧетыре пациента получали анти-PD-1/PD-L1 + анти-CTLA-4, 8 пациентов получали анти-CTLA-4 после анти-PD-1/PD-L1 и 33 пациента получали анти-CTLA-4 перед анти-PD-1/PD-L1; о предшествующей терапии анти-CTLA-4 не сообщалось у 2 пациентов

^bТридцать три пациента получали ниволумаб, 33 пациента получали пембролизумаб и 2 пациента получали другие терапии. ^cОб ответе у 1 пациента сообщалось как о неподходящем.

Фигура 19

Противоопухолевая Активность BMS-986016 + Ниволумаб

	Мел Предш. PD-(L)1 ^a	
	Все n=61	LAG-3 ≥ 1% ^b n=33
ORR, ^c n (%) 95% CI	7 (11.5) ^d 4.7, 22	6 (18) ^d 7, 36
BOR, ^c n (%)		
CR	1 (1.6)	1 (3.0)
PR	6 (9.8) ^d	5 (15) ^d
SD	23 (38)	15 (45)
PD	25 (41)	8 (24)
Клиническое прогрессирование ^c	6 (9.8)	4 (12)
DCR (CR + PR + SD), ^c n (%) 95% CI	30 (49) 36, 62	21 (64) 45, 80

BOR, наилучший суммарный ответ.

^aОцениваемые по ответу пациенты; все прогрессировали во время предшествующей анти-PD-1/PD-L1 терапии. ^bИммуно-клеточная экспрессия LAG-3 (процент положительных клеток в пределах инвазивного края, опухоли и стромы), измеренная с помощью ИHC в срезах опухоли с клоном 17B4 антитела.

^cОтвет опухоли, оцениваемый исследователем по Критериям Оценки Ответа в Сolidных Опухолях v1.1. ^dОдин ответ был неподтвержден. ^eПроизошло до первого радиографического скана.

Фигура 20

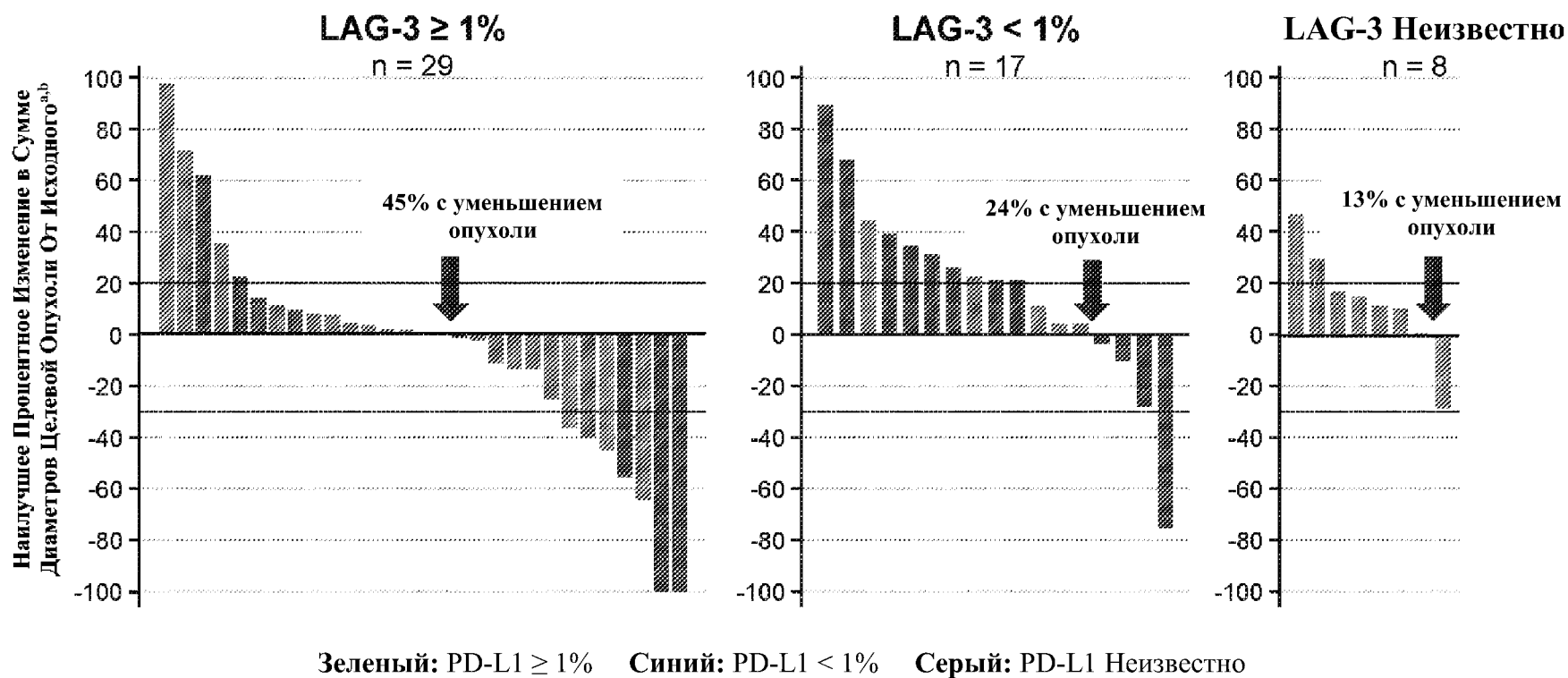
Ответ по Исходным Характеристикам и Экспрессии LAG-3

	Мел Предш. PD-(L)1 ^a			
	Экспрессия LAG-3 (N=53)			
	LAG-3 ≥ 1%		LAG-3 < 1%	
	N	CRR, n (%)	N	CRR, n (%)
Экспрессия PD-L1 ^b (N=44)				
≥ 1%	16	1 (6.3)	4	0
< 1%	11	3 (27)	13	1 (7.7)
Статус BRAF (N=52)				
Нет мутации	21	5 (24)	11	1 (9.1)
Мутация	11	1 (9.1)	9	0
Предшествующая анти-CTLA-4 (N=53)				
Нет	12	1 (8.3)	7	1 (14)
Да	21	5 (24)	13	0

^aОцениваемые по ответу пациенты; все прогрессировали во время предшествующей анти-PD-1/PD-L1 терапии. ^bЭкспрессия PD-L1 опухолевыми клетками (процент положительных клеток в пределах инвазивного края, опухоли и стромы), измеренная с помощью ИHC в срезах опухоли с набором Dako PD-L1. ИHC 28-8.

Фигура 21

**Наилучшее Изменение Размера Целевого Поражения по
Экспрессии LAG-3 и PD-L1**

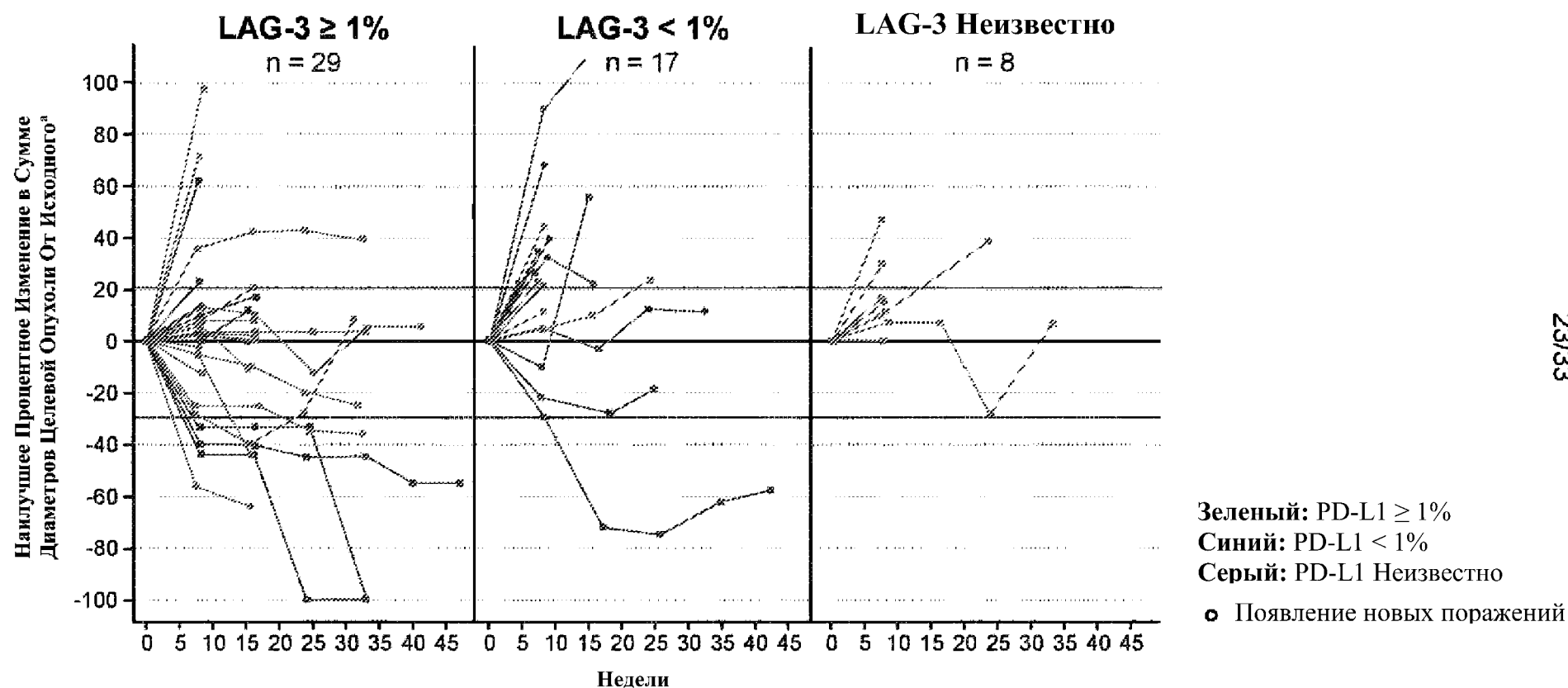


^aШесть пациентов с клиническим прогрессированием до их первого скана и один с PD благодаря изображению новых метастаз в мозге с клиническими проявлениями до получения полных сканов не были включены.

^bОдин пациент с наилучшим изменением от исходного $> 30\%$ имел наилучший ответ SD.

Фигура 22

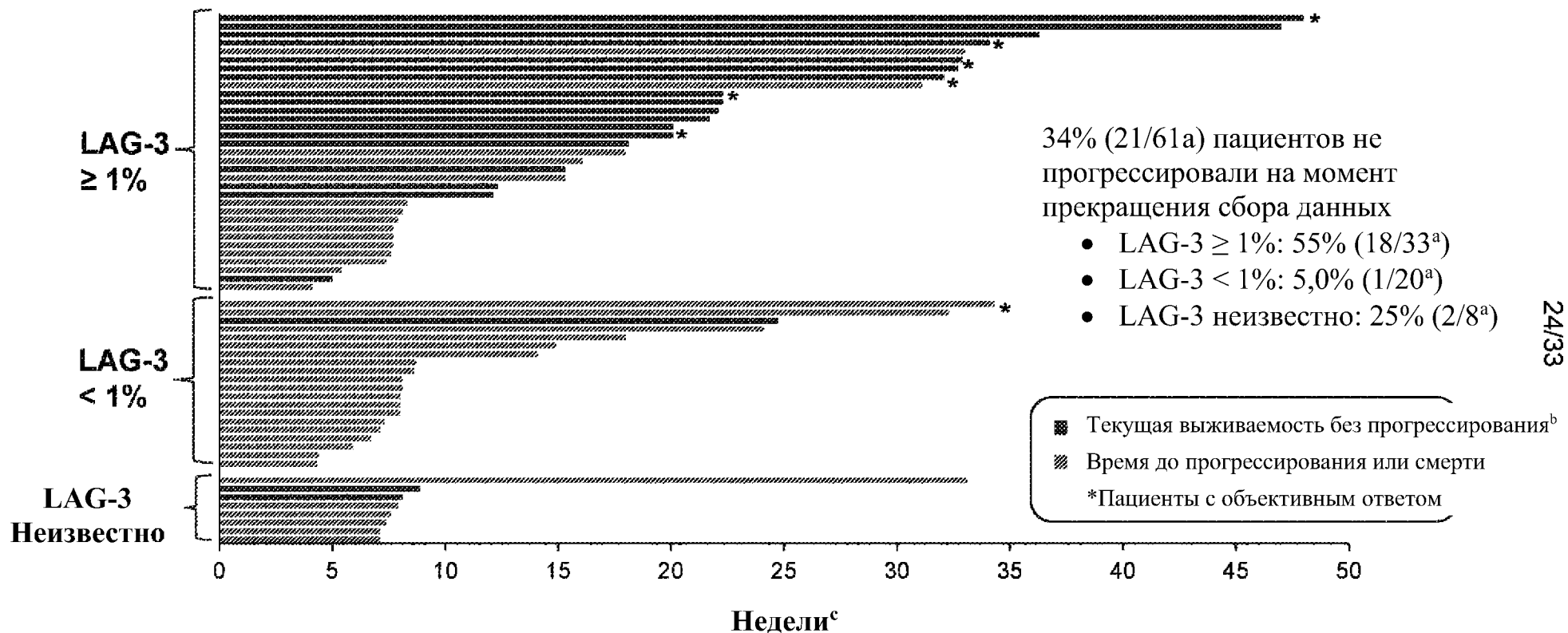
Глубина и Продолжительность Ответа по Экспрессии LAG-3 и PD-L1



^aШесть пациентов с клиническим прогрессированием до их первого скана и один пациент с PD из-за новых симптоматических метастаз в мозге до получения полных сканов не были включены.

Фигура 23

Текущее Клиническое Наблюдение

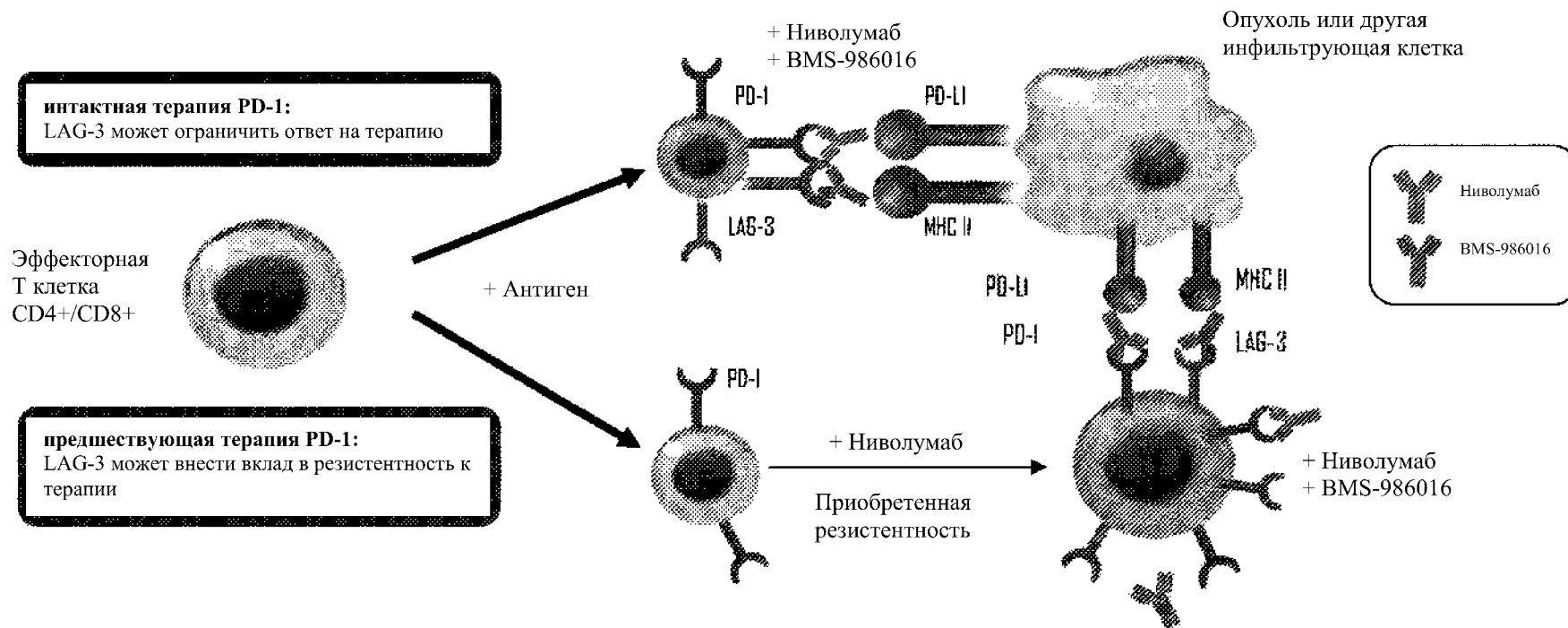


^aОцениваемые по ответу пациенты; все прогрессировали в течение предшествующей терапии анти-PD-1/PD-L1. ^bЦензурированные на последнем визите.

^cОценка планируется каждые 8 недель

Фигура 24

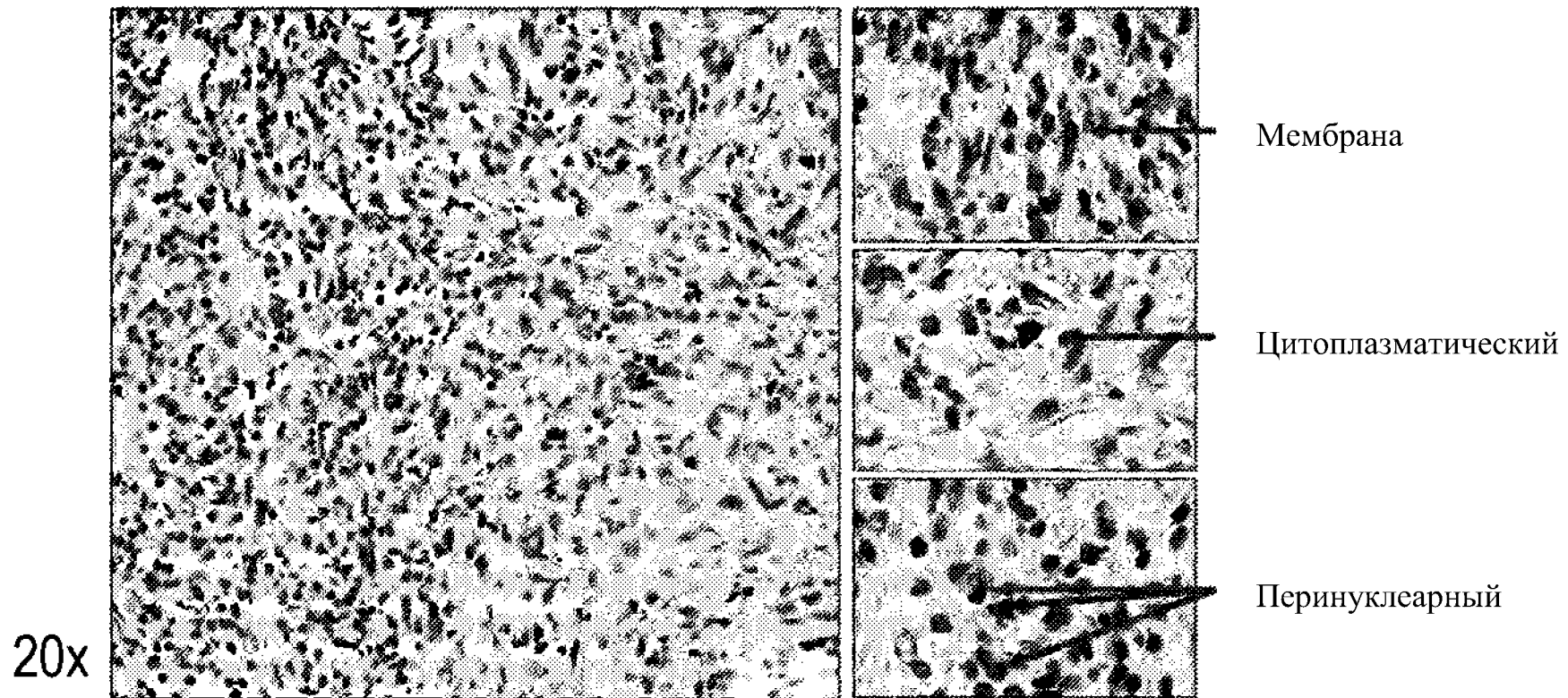
Роль LAG-3 и PD-1 в истощении Т-клеток и предполагаемое клиническое применение BMS-986016 в комбинации с ниволумабом



CD = кластер дифференциации; LAG-3 = ген 3 активации лимфоцитов; МНС II = главный комплекс гистосовместимости класса II; PD-1 = запрограммированная смерть-1; PD-L1 = лиганд 1 запрограммированной смерти-1

Фигура 25

Паттерны экспрессии LAG-3 с помощью окрашивания ИHC общего количества
ядросодержащих клеток в образце опухоли меланомы

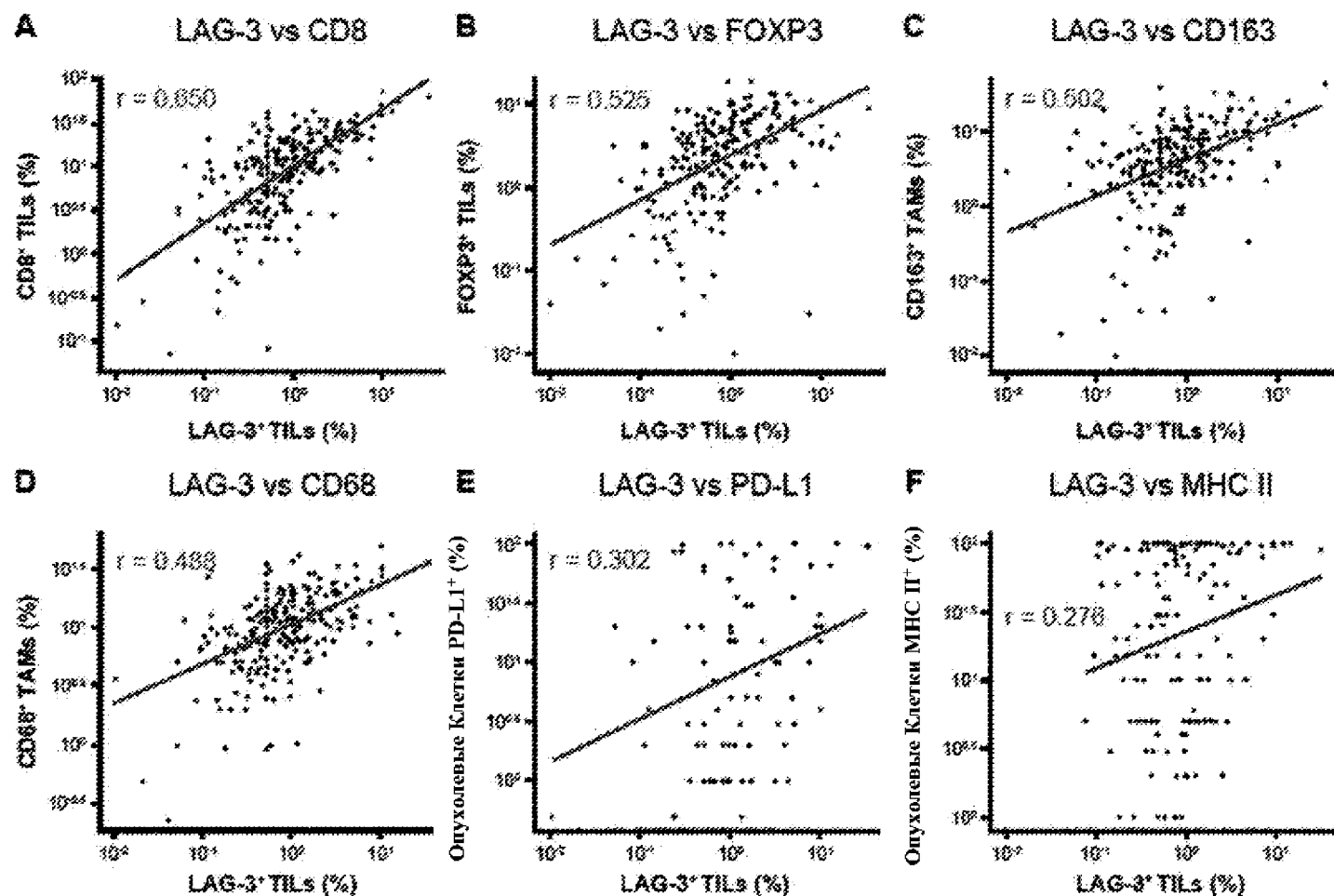


26/33

ИHC = иммуногистохимия; LAG-3 = ген 3 активации лимфоцитов

Фигуры 26А-Е

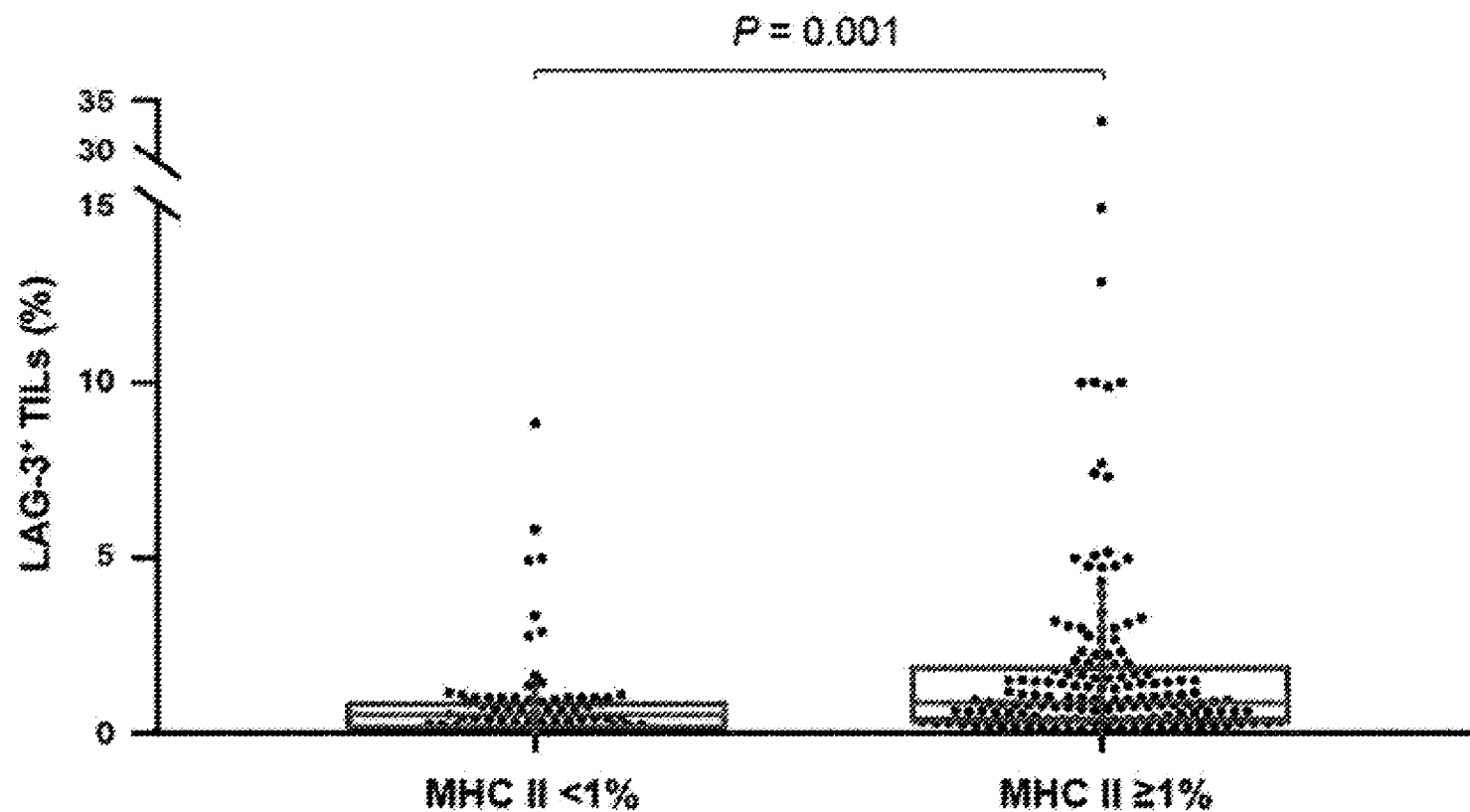
Ассоциация LAG-3 с иммунными и воспалительными биомаркерами



n = 237. LAG-3, CD8, FOXP3, CD163, CD68 подсчитаны на иммунных клетках; PD-L1 и MHC II подсчитаны на опухолевых клетках. CD = кластер дифференциации; FOXP3 = транскрипционная коробка P3; LAG-3 = ген 3 активации лимфоцитов; MHC II = главный комплекс гистосовместимости класса II; PD-L1 = лиганд 1 запрограммированной смерти-1; TAMs = ассоциированные с опухолью макрофаги; TILs = инфильтрующие опухоль лимфоциты.

Фигура 27

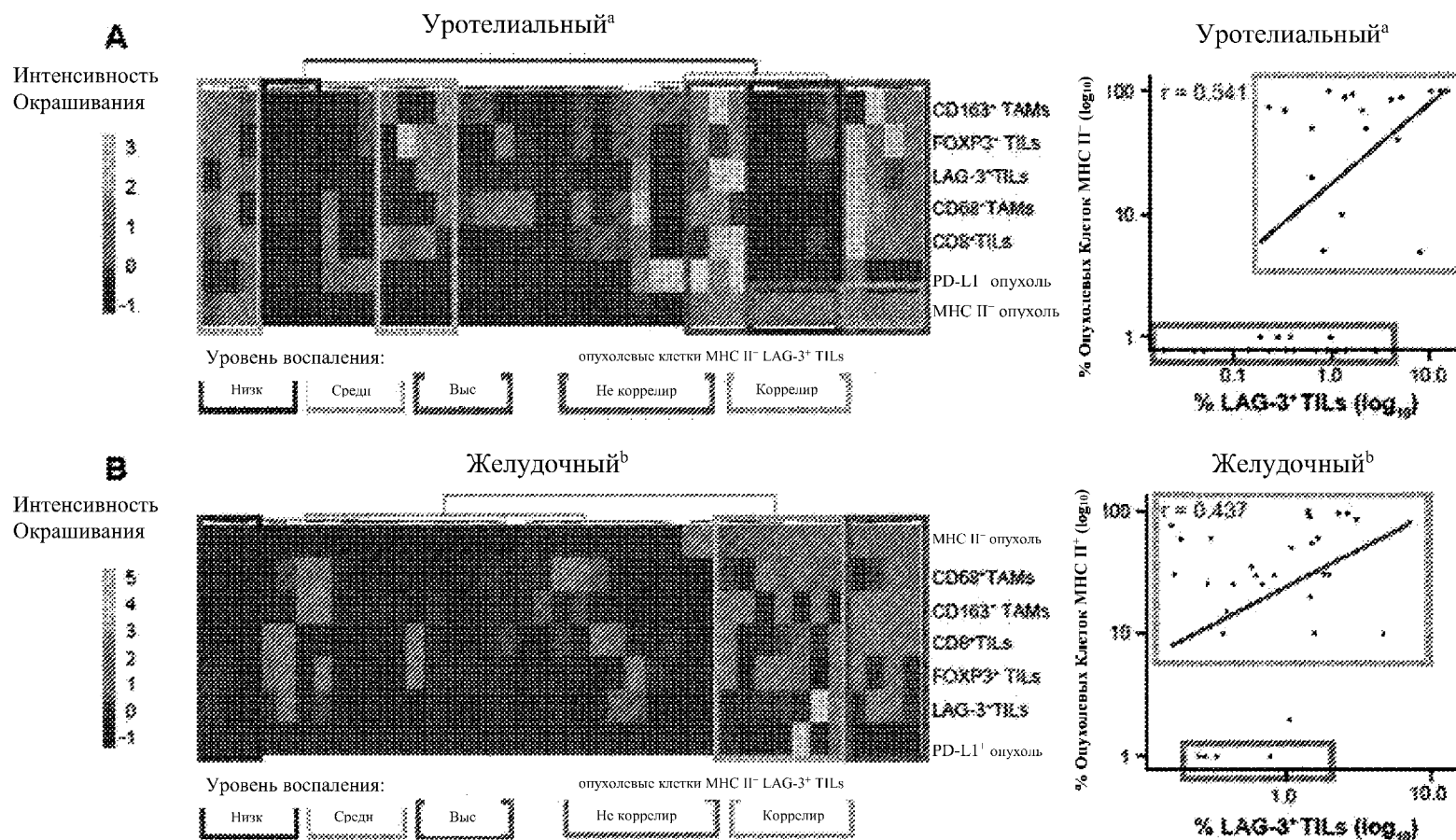
LAG-3⁺ TILs по экспрессии МНС II опухолевыми клетками



n = 241. Вертикальные оси представляют межквартильный диапазон. LAG-3 = ген 3 активации лимфоцитов; МНС II = главный комплекс гистосовместимости класса II; TILs = инфильтрующие опухоль лимфоциты.

Фигуры 28А-В.

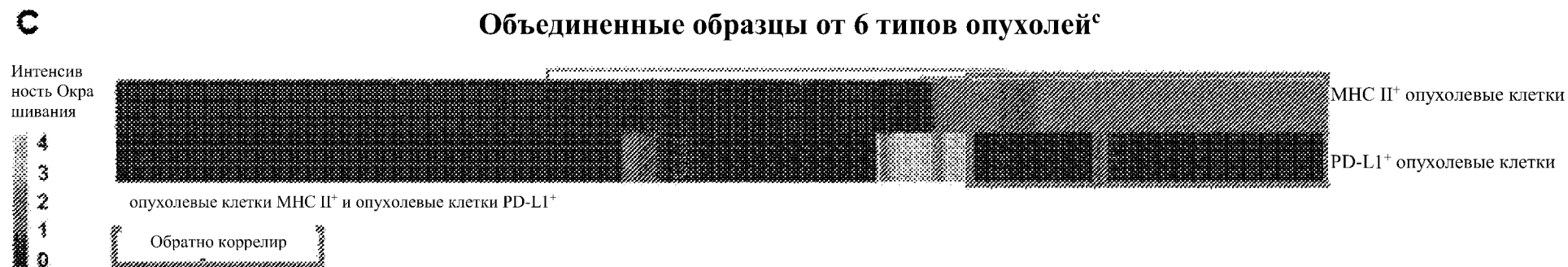
Связь между воспалительными кластерами и биомаркерами экспрессии



^а n = 37. ^б n = 39. ^в n = 229. CD = кластер дифференциации; FOXP3 = транскрипционная коробка P3; LAG-3 = ген 3 активации лимфоцитов; MHC II = главный комплекс гистосовместимости класса II; NSCLC = немелкоклеточная карцинома легкого; PD-L1 = лиганд 1 запрограммированной смерти-1; TAMs = ассоциированные с опухолью макрофаги; TILs = инфильтрующие опухоль лимфоциты.

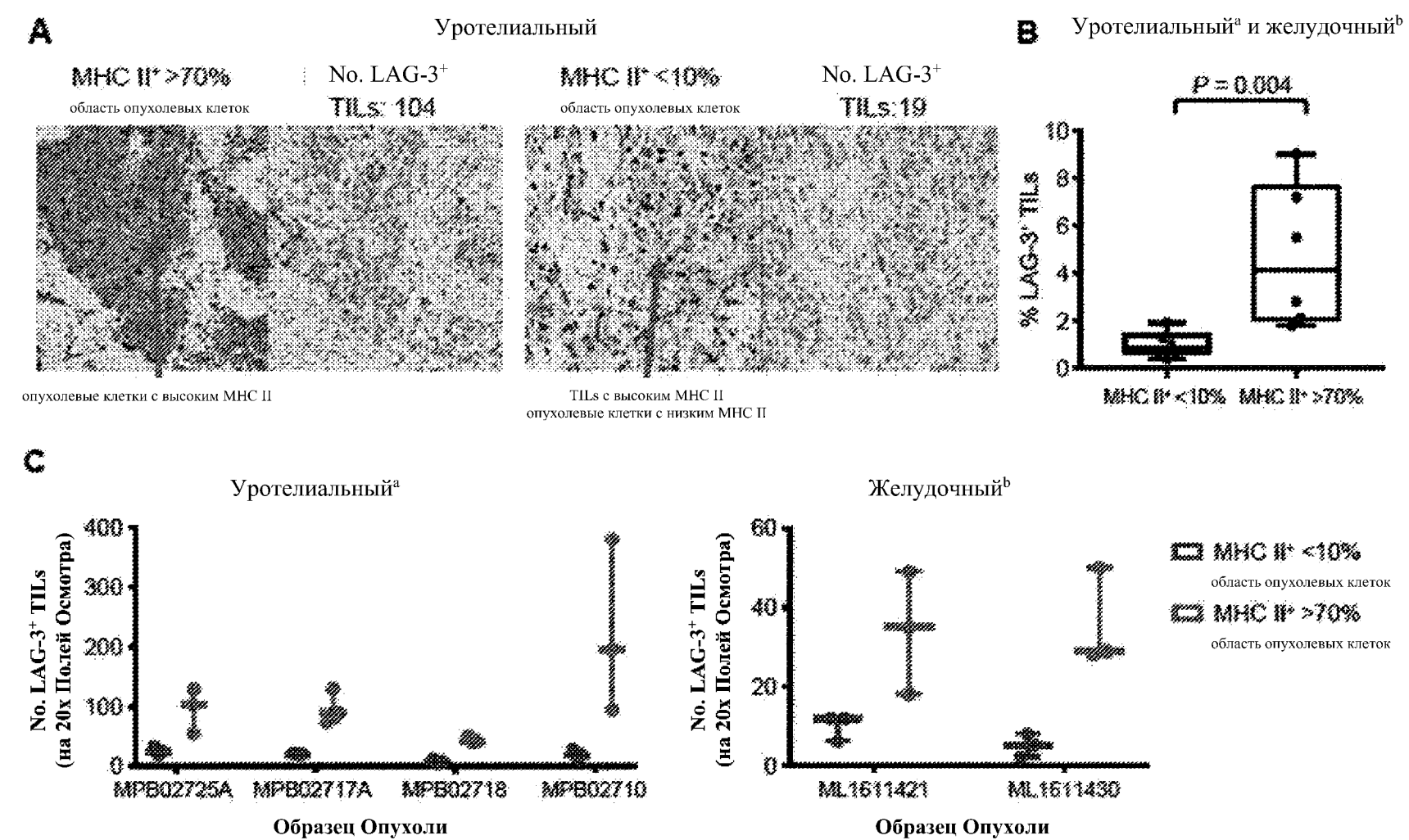
Фигура 28С.

Связь между воспалительными кластерами и биомаркерами экспрессии



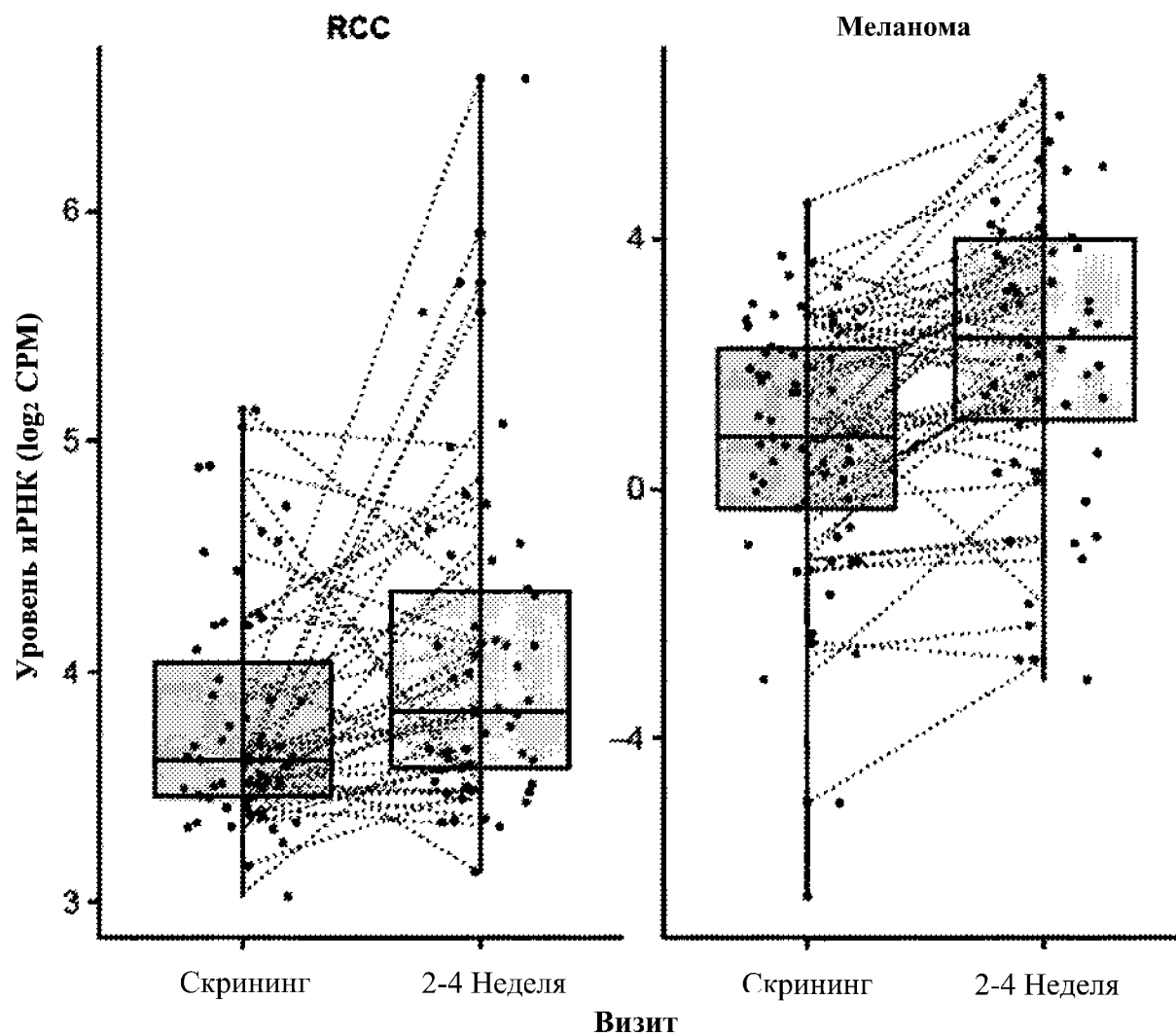
^a n = 37. ^b n = 39. ^c n = 229. CD = кластер дифференциации; FOXP3 = транскрипционная коробка P3; LAG-3 = ген 3 активации лимфоцитов; МНС II = главный комплекс гистосовместимости класса II; NSCLC = немелкоклеточная карцинома легкого; PD-L1 = лиганд 1 запрограммированной смерти-1; TAMs = ассоциированные с опухолью макрофаги; TILs = инфильтрующие опухоль лимфоциты.

Фигуры 29А-С. Гетерогенная экспрессия МНС II опухолевыми клетками и LAG⁺ TILs



^а n = 4, ^б n = 2. LAG-3 = ген 3 активации лимфоцитов; МНС II = главный комплекс гистосовместимости класса II; TILs = инфильтрующие опухоль лимфоциты.

Фигура 30А. **Уровни иРНК LAG-3 при скрининге и на 2-4 неделю**
монотерапии ниволумабом



Фигура 30В.

**Уровни иРНК LAG-3 при скрининге и на 2-4 неделю
монотерапии ниволумабом**

Изменения в уровнях иРНК LAG-3	RCC	Меланома
n: предварительное лечение, последующее лечение	59, 55	61, 62
значение <i>P</i>	0.0479	0.00002
Увеличение среднего от базовой линии предварительного лечения	1.2	3.1

Пунктирные линии представляют образцы от одних и тех же пациентов. CPM = частей на миллион; LAG-3 = ген 3 активации лимфоцитов; RCC = карцинома клеток почки.