

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **038920**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.11.10

(21) Номер заявки
201590671

(22) Дата подачи заявки
2013.10.02

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

**(54) КОМБИНАЦИЯ АНТИТЕЛ К KIR И АНТИТЕЛ К PD-1 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ
ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ОПУХОЛИ**

(31) 61/708,784

(32) 2012.10.02

(33) US

(43) 2015.10.30

(86) PCT/US2013/063068

(87) WO 2014/055648 2014.04.10

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**БРИСТОЛ-МАЙЕРС СКВИББ
КОМПАНИ (US)**

(72) Изобретатель:
**Грациано Роберт Ф., Гупта Ашок К.,
Ким Су Юнг, Виггинтон Джон (US)**

(74) Представитель:
**Лыу Т.Н., Угрюмов В.М., Дементьев
В.Н., Клюкин В.А., Захарова Н.С.,
Глухарёва А.О., Карпенко О.Ю.,
Строкова О.В., Христофоров А.А.
(RU)**

(56) WO-A2-2006072625

Anonymous: "A Phase I Study of an Anti-KIR Antibody in Combination With an Anti-PD1 Antibody in Patients With Advanced Solid Tumors - Full Text View - ClinicalTrials.gov", 24 October 2012 (2012-10-24), XP055089900, Retrieved from the Internet: URL: <http://clinicaltrials.gov/show/NCT01714739> [retrieved on 2013-11-25] the whole document

WO-A1-2006121168

WO-A2-2012160448

(57) Изобретение относится к способу лечения злокачественной опухоли экспрессирующей PD-L1 с помощью антитела к KIR в комбинации с антителом к PD-1.

B1

038920

038920

B1

Уровень техники

Клетки - нормальные киллеры (NK) составляют 15% лимфоцитов периферической крови и играют важную роль в способности системы врожденного иммунитета бороться с вирусными инфекциями, а также злокачественными опухолями (Purdy A.K. et al., *Cancer Biol. Ther.* 2009; 8:13-22). NK-клетки связываются с клетками-мишенями посредством многочисленных рецепторов, включая в себя естественные рецепторы цитотоксичности (NCR), Fc-рецептор CD16, NKG2D и другие. Связывание лиганда с рецептором инициирует фосфорилирование тирозина и рекрутинг вспомогательных сигнальных молекул. Этот каскад приводит к активации NK-клетки, высвобождению ранее образованных гранул, содержащих перфорин и гранзимы, в клетку-мишень и апоптозу. Одновременное высвобождение цитокинов и хемокинов дает в результате микросреду, которая обеспечивает рекрутинг других иммунных клеток. NK-клетки характеризуются способностью к связыванию с любой клеткой в организме (Murphy W.J., et al., *Biol. Blood Marrow Transplant* 2012; 18:S2-S7). Тем не менее, связывание нормальных клеток не приводит к цитотоксической активности благодаря способности NK-клеток одновременно использовать различные наборы рецепторов для связывания с молекулами главного комплекса гистосовместимости (MHC) I класса. Связывание лейкоцитарного антигена человека (HLA) E с гетеродимерным рецептором NKG2A/CD94 или молекул HLA-A, B и C с ингибирующими Ig-подобными рецепторами NK-клеток (KIR) приводит к фосфорилированию тирозина, рекрутингу сигнальных адапторных молекул SHP-1 или SHP-2 и нижележащей передаче сигнала. Конечным результатом является доминирующий сигнал, который подавляет нормальные сигналы активации. Таким образом, взаимодействие KIR/HLA может воздействовать на реактивность NK-клеток, а также развитие общего количества зрелых реактивных NK-клеток, что известно как обучение.

Существуют семь ингибирующих KIR и семь активирующих KIR, что является одним из факторов, который приводит к разнообразию в наследовании и экспрессии KIR. KIR также экспрессируется на нормальных киллерных Т-клетках (NKT) и небольшом подклассе Т-клеток (Uhrberg M., et al., *J. Immunol.* 2001; 166:3923-3932). Таким образом, с точки зрения механизма блокада ингибирующего KIR могла индуцировать противоопухолевые эффекты путем обеспечения активации NK-клетки, а также, возможно, некоторых Т-клеток.

Доказательство в подтверждение вовлечения NK-клеток в противоопухолевый ответ следует из исследований трансплантатов гематопоэтических стволовых клеток (HSCT). Принимая во внимание разнообразие как в KIR, так и HLA, неудивительно, что KIR на NK-клетках донора могут не взаимодействовать с HLA реципиента, что называется несоответствием по KIR. Данные о том, что пациенты с AML, которым провели трансплантацию NK-клеток не соответствующего по KIR донора, характеризовались пониженной частотой рецидивов (3% по сравнению с 47%, $p < 0,01$) и сниженным риском рецидива (относительный риск 0,48, 95% CI 0,29-0,78), дали научное подтверждение роли NK-клеток в противоопухолевом ответе (Ruggeri L., et al. *Blood.* 2007; 110:433-440).

При меланоме определенные комбинации KIR и HLA могут обеспечивать более иммунодепрессивное окружение, поскольку определенные комбинации чаще наблюдаются у пациентов с метастазами по сравнению с пациентами без метастазов (Naumova E., et al. *Cancer Immunol Immunother* 2005; 54:172-178). Было показано, что несоответствие по KIR представляет собой подходящий прогностический маркер высокого риска для пациентов с нейробластомой, подвергающихся аутологичной HSCT (Delgado D.C., et al., *Cancer Res.* 2010; 70:9554-9561). Экспериментальное подтверждение важной роли NK-клеток при солидных опухолях предоставляют исследования на мышах, в которых мыши, у которых отсутствовали Т-клетки, все еще могли устранять большие солидные опухоли после активации NK-клеток путем добавления IL-15 (Liu R.B., et al., *Cancer Res.* 2012; 72:1964-1974).

Рецептор программируемой клеточной смерти 1 (PD-1) представляет собой сигнальный рецептор клеточной поверхности, который играет критически важную роль в регуляции активации Т-клеток и иммунологической толерантности (Keir M.E., et al., *Annu. Rev. Immunol.* 2008; 26:677-704). Он представляет собой трансмембранный белок I типа и вместе с BTLA, CTLA-4, ICOS и CD28 составляет семейство CD28 Т-клеточных костимулирующих рецепторов. PD-1 главным образом экспрессируется на активированных Т-клетках, В-клетках и миелоидных клетках (Dong H., et al., *Nat. Med.* 1999; 5:1365-1369). Также он экспрессируется на клетках - нормальных 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 ингибирующем тирозиновом домене иммунного рецептора с последующим рекрутингом фосфатазы SHP-2, в итоге приводя к отрицательной регуляции активации Т-клеток. Одной важной ролью PD-1 является ограничение активности Т-клеток в периферических тканях во время воспалительного ответа на инфекцию, таким образом, ограничивая развитие аутоиммунной реакции (Pardoll D.M., *Nat. Rev. Cancer.* 2012; 12:252-264). Доказательство указанной отрицательной регуляторной роли основано на данных о том, что у мышей с дефицитом в отношении PD-1 развиваются волчаночноподобные аутоиммунные заболевания, включая в себя артрит и нефрит, наряду с кардиомиопатией (Nishimura H., et al., *Immunity* 1999; 11:141-151; и Nishimura H., et al., *Science* 2001; 291:319-322). В исследованиях опухолей последствием является развитие иммунорезистентности в пределах микроокружения опухоли. PD-1 экспрессируется в высокой степени на инфильтрирующих опухоль лимфоцитах, и

его лиганды положительно регулируются на клеточной поверхности различных многочисленных опухолей (Dong H., et al., *Nat. Med.* 2002; 8:793-800). Многочисленные мышинные модели злокачественных опухолей продемонстрировали, что связывание лиганда с PD-1 приводит к ускользанию от механизмов иммунологического надзора. Кроме того, блокада указанного взаимодействия приводит к противоопухолевой активности (Topalian S.L., et al., *New Eng. J. Med.* 2012; 366(26):2443-2454; Topalian S.L., et al., *Curr Opin. Immunol.* 2012; 24:207-212; Brahmer J.R., et al., *New Eng. J. Med.* 2012; 366(26):2455-2465; Hamid O., et al., *New Eng. J. Med.* 2013; 369:134-144; Hamid O. and Carvajal R.D., *Expert Opin. Biol. Ther.* 2013; 13(6):847-861).

Пациенты с метастазирующими или рефрактерными солидными опухолями характеризуются очень неблагоприятным прогнозом (Rosenberg S.A., et al, *Cancer immunotherapy in Cancer: Principles & Practice of Oncology* (Eds DeVita V.T., Lawrence T.S. and Rosenberg S.A.) 2011; 332-344 (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia PA)). Несмотря на достижения в мультимодальной терапии, увеличение общей выживаемости в указанной популяции пациентов было ограничено. Соответственно, целью настоящего изобретения является предоставить улучшенные способы лечения субъектов с такими опухолями (например, рефрактерными солидными опухолями на поздней стадии).

Сущность изобретения

В настоящем документе предусмотрены способы лечения злокачественной опухоли экспрессирующей PD-L1, например рефрактерных солидных опухолей на поздней стадии, у пациента-человека, включающие введение пациенту комбинации антитела к KIR и антитела к PD-1, причем комбинацию вводят (или она предусмотрена для введения) согласно конкретному клиническому режиму дозирования (т.е. в конкретном количестве дозы и согласно конкретной схеме дозирования). Согласно одному неограничивающему варианту осуществления пациент-человек страдает от опухоли (например, рефрактерной солидной опухоли на поздней стадии), выбранной из группы, состоящей из немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), почечно-клеточного рака (RCC), меланомы, колоректального рака и серозной карциномы яичника. Другие опухоли, которые могут поддаваться лечению, описаны в последующем подробном раскрытии настоящего изобретения.

Иллюстративное антитело к KIR представляет собой лирилумаб (также ранее имеющий название BMS-986015 или IPH2102), содержащий тяжелые и легкие цепи, характеризующиеся последовательностями, представленными в SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно, или их антигенсвязывающими фрагментами и вариантами. Согласно другим вариантам осуществления антитело содержит определяющие комплементарность области (CDR) или вариабельные области (VR) тяжелой и легкой цепи лирилумаба. Соответственно, согласно одному варианту осуществления антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи (VH) лирилумаба, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи (VL) лирилумаба, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 5. Согласно другому варианту осуществления антитело содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO: 7, 8 и 9 соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленные в SEQ ID NO: 10, 11 и 12 соответственно. Согласно другому варианту осуществления антитело содержит области VH и/или VL, характеризующиеся аминокислотными последовательностями, представленными в SEQ ID NO: 3 и/или SEQ ID NO: 5 соответственно. Согласно другому варианту осуществления антитело содержит области VH и/или VL, кодируемые последовательностями нуклеиновой кислоты, представленными в SEQ ID NO: 4 и/или SEQ ID NO: 6 соответственно. Согласно другому варианту осуществления антитело конкурирует за связывание и/или связывается с таким же эпитопом на KIR, что и вышеупомянутые антитела. Согласно другому варианту осуществления антитело характеризуется по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью аминокислотной последовательности вариабельной области с вышеупомянутыми антителами (например, по меньшей мере приблизительно 90%, 95% или 99% идентичностью вариабельной области с SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 5).

Иллюстративное антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб (имеющий название 5C4 в международной патентной публикации WO 2006/121168; также известный как BMS-936558, MDX-1106 или ONO-4538), содержащий тяжелые и легкие цепи, характеризующиеся последовательностями, представленными в SEQ ID NO: 17 и 18 соответственно, или их антигенсвязывающими фрагментами и вариантами. Согласно другим вариантам осуществления антитело содержит CDR или VR тяжелой и легкой цепи ниволумаба. Соответственно, согласно одному варианту осуществления антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VH лирилумаба, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VL лирилумаба, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 21. Согласно другому варианту осуществления антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, характеризующиеся последовательностями, представленными в SEQ ID NO: 23, 24 и 25 соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, характеризующиеся последовательностями, представленными в SEQ ID NO: 26, 27 и 28 соответственно. Согласно другому варианту осуществления антитело содержит области VH и/или VL, характеризующиеся аминокислотными последовательностями, представленными в SEQ ID NO: 19 и/или SEQ ID NO: 21 соответственно. Согласно другому варианту осуществления антитело содержит вариабельную область

тяжелой цепи (VH) и/или вариабельную область легкой цепи (VL), кодируемые последовательностями нуклеиновой кислоты, представленными в SEQ ID NO: 20 и/или SEQ ID NO: 22 соответственно. Согласно другому варианту осуществления антитело конкурирует за связывание и/или связывается с таким же эпитопом на PD-1, что и вышеупомянутые антитела. Согласно другому варианту осуществления антитело характеризуется по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью аминокислотной последовательности вариабельной области с вышеупомянутыми антителами (например, по меньшей мере приблизительно 90%, 95% или 99% идентичностью вариабельной области с SEQ ID NO: 19 или SEQ ID NO: 21).

Соответственно, согласно одному аспекту предусмотрены способы лечения злокачественной опухоли (например, рефрактерных солидных опухолей на поздней стадии) у пациента-человека, причем способы включают введение пациенту эффективного количества каждого из следующего:

(а) антитело к KIR, содержащее домены CDR1, CDR2 и CDR3 в вариабельной области тяжелой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 в вариабельной области легкой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 5,

(b) антитело к PD-1, содержащее домены CDR1, CDR2 и CDR3 в вариабельной области тяжелой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 в вариабельной области легкой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 21,

причем способ включает по меньшей мере один цикл введения, при этом цикл представляет собой период из восьми недель, причем для каждого из по меньшей мере одного цикла две дозы антитела к KIR вводят в дозе, составляющей 0,1-20 мг/кг массы тела, и четыре дозы антитела к PD-1 вводят в дозе, составляющей 0,1-20 мг/кг массы тела.

Согласно определенным вариантам осуществления каждую дозу антитела к KIR вводят в количестве 0,1, 0,3, 1, 3, 6, 10 или 20 мг/кг. Согласно предпочтительным вариантам осуществления каждую дозу антитела к KIR вводят в количестве 0,3, 1 или 3 мг/кг.

Согласно другим вариантам осуществления каждую дозу антитела к PD-1 вводят в количестве 0,1, 0,3, 1, 3, 6, 10 или 20 мг/кг массы тела. Согласно предпочтительным вариантам осуществления каждую дозу антитела к PD-1 вводят в количестве 0,3, 1, 3 или 10 мг/кг. Согласно более предпочтительным вариантам осуществления антитело к PD-1 вводят в дозе, составляющей 3 мг/кг.

Согласно одному варианту осуществления антитело к KIR и антитело к PD-1 вводят в следующих дозах:

- (а) 0,1 мг/кг антитела к KIR и 3 мг/кг антитела к PD-1;
- (b) 0,3 мг/кг антитела к KIR и 3 мг/кг антитела к PD-1;
- (с) 1 мг/кг антитела к KIR и 3 мг/кг антитела к PD-1;
- (d) 3 мг/кг антитела к KIR и 3 мг/кг антитела к PD-1;
- (е) 6 мг/кг антитела к KIR и 3 мг/кг антитела к PD-1 или
- (f) 10 мг/кг антитела к KIR и 3 мг/кг антитела к PD-1.

Соответственно, согласно одному варианту осуществления дозу антитела к KIR и/или антитела к PD-1 рассчитывают на мг/кг массы тела. Тем не менее, согласно другому варианту осуществления доза антитела к KIR и/или антитела к PD-1 представляет собой постоянно фиксированную дозу, которая зафиксирована независимо от массы пациента. Например, антитело к KIR и/или антитело к PD-1 можно вводить в фиксированной дозе, составляющей 5, 20, 75, 200, 400, 750 или 1500 мг независимо от массы пациента. Согласно определенным вариантам осуществления введенная доза антитела к PD-1 может быть зафиксирована на 200 мг, тогда как антитело к KIR вводят в фиксированной дозе, составляющей 5, 20, 75, 200, 400 или 750 мг. Согласно другому варианту осуществления режимы дозирования регулируют для обеспечения оптимального требуемого ответа (например, эффективного ответа).

Согласно другому варианту осуществления антитело к PD-1 вводят в 1, 15, 29 и 43 день каждого цикла. Согласно другому варианту осуществления антитело к KIR вводят в 1 и 29 день каждого цикла. Согласно другому варианту осуществления антитело к PD-1 вводят до введения антитела к KIR в 1 и 29 день. Согласно другому варианту осуществления антитело к KIR вводят не позже чем через 30 мин после введения антитела к PD-1. Согласно другому варианту осуществления лечение состоит из вплоть до 12 циклов.

Согласно одному варианту осуществления антитело к PD-1 и антитело к KIR вводят в качестве первой ("фронтальной") линии лечения (например, стартового или первоначального лечения). Согласно другому варианту осуществления антитело к PD-1 и антитело к KIR вводят в качестве второй линии лечения (например, после стартового лечения с помощью того же или другого терапевтического средства, включая в себя лечение после рецидива и/или в случае неудачи первоначального лечения).

Антитела к KIR и антитела к PD-1 можно вводить субъекту с помощью любых подходящих средств. Согласно одному варианту осуществления антитела вводят в состав для внутривенного введения. Согласно другому варианту осуществления антитела вводят одновременно (например, в одном составе или одновременно в отдельных составах). Альтернативно, согласно другому варианту осуществления антитела вводят последовательно (например, в виде отдельных составов).

Эффективность предусмотренных в настоящем документе способов лечения можно оценить с использованием любых подходящих средств. Согласно одному варианту осуществления лечение производит по меньшей мере один терапевтический эффект, выбранный из группы, состоящей из снижения размера опухоли, снижения количества метастатических поражений с течением времени, полного ответа, частичного ответа и стабильного заболевания.

Также предусмотрены наборы, которые включают в себя фармацевтическую композицию, содержащую такое антитело к KIR, как лирилумаб, и такое антитело к PD-1, как ниволумаб, и фармацевтически приемлемый носитель, в терапевтически эффективном количестве, адаптированном для применения в описанных в настоящем документе способах. Согласно одному варианту осуществления набор содержит:

(а) дозу антитела к KIR, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 в вариательной области тяжелой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 в вариательной области легкой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 5;

(b) дозу антитела к PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 в вариательной области тяжелой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 в вариательной области легкой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 21; и

(с) инструкции по применению антитела к KIR и антитела к PD-1 в способе согласно настоящему изобретению.

Согласно другому аспекту предусмотрено антитело к KIR, причем антитело к KIR содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 в вариательной области тяжелой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 в вариательной области легкой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 5, для совместного введения с антителом к PD-1, содержащим домены CDR1, CDR2 и CDR3 в вариательной области тяжелой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 в вариательной области легкой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 21, по меньшей мере в одном цикле, причем для каждого цикла две дозы антитела к KIR вводят в дозе, составляющей 0,1, 0,3, 1, 3, 6 или 10 мг/кг, и четыре дозы антитела к PD-1 вводят в дозе, составляющей 3 мг/кг.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения антитело к PD-1 в любом из вышеупомянутых вариантов осуществления замещают антителом к PD-L1 или антителом к PD-L2 или комбинируют с антителом к PD-L1 или антителом к PD-L2. Иллюстративные антитела к PD-L1 описаны в международных патентных публикациях WO 2007/005874, WO 2010/077634 и WO 2011/066389 и иллюстративные антитела к PD-L2 описаны в международной патентной публикации WO 2004/007679. Соответственно, настоящее изобретение также включает способы, композиции и наборы для лечения опухолей у пациентов с использованием описанных выше клинически эффективных дозировок антитела к KIR, комбинированного с описанными выше клинически эффективными дозировками антитела к PD-1, причем дозировку антитела к PD-1 заменяют такой же дозировкой антитела к PD-L1 или антитела к PD-L2.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 показано ингибирование роста опухоли *in vivo* с применением комбинированного лечения с помощью антитела к KIR и антитела к PD-1 в мышинной модели солидной опухоли.

На фиг. 2 представлена схематическая иллюстрация частей I фазы клинического испытания.

Подробное описание изобретения

I. Определения.

Используемый в настоящем документе термин "субъект" или "пациент" представляет собой человека-пациента со злокачественной опухолью (например, пациента, характеризующегося наличием такой опухоли, как рефрактерная солидная опухоль на поздней стадии или гематологическая злокачественная опухоль).

Используемый в настоящем документе термин "эффективное лечение" относится к лечению, производящему благоприятный эффект, например уменьшение интенсивности по меньшей мере одного симптома заболевания или нарушения. Благоприятный эффект может принимать вид улучшения относительно исходного уровня, т.е. улучшение относительно измерения или наблюдения, произведенного до начала терапии согласно способу. Благоприятный эффект также может принимать вид прекращения, замедления, задержки или стабилизации вредного прогрессирования маркера солидной опухоли. Эффективное лечение может относиться к облегчению по меньшей мере одного симптома солидной опухоли. Такое эффективное лечение, например, может снижать боль у пациента, снижать размер и/или число поражений, может снижать или предотвращать метастазирование опухоли и/или может замедлять рост опухоли.

Термин "эффективное количество" относится к количеству средства, которое обеспечивает требуемый биологический, терапевтический и/или профилактический результат. Указанный результат может представлять собой снижение, уменьшение интенсивности, временное облегчение, ослабление, замедле-

ние и/или облегчение одного или нескольких признаков, симптомов или причин заболевания или любое другое требуемое изменение биологической системы. В отношении солидных опухолей эффективное количество включает количество, достаточное, чтобы вызвать сокращение размера опухоли и/или снижение скорости роста опухоли (например, подавить рост опухоли) или чтобы предотвратить или замедлить другую нежелательную клеточную пролиферацию. Согласно некоторым вариантам осуществления эффективное количество представляет собой количество, достаточное для задержки развития опухоли. Согласно некоторым вариантам осуществления эффективное количество представляет собой количество, достаточное для предотвращения или задержки развития рецидива опухоли. Эффективное количество можно ввести за одно или несколько введений. Эффективное количество лекарственного средства или композиции может: (i) снижать количество злокачественных клеток; (ii) снижать размер опухоли; (iii) ингибировать, задерживать, замедлять до некоторой степени и может останавливать инфильтрацию злокачественных 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 появление и/или рецидив опухоли; и/или (vii) облегчать до некоторой степени один или несколько симптомов, связанных со злокачественной опухолью. В одном примере "эффективное количество" представляет собой количество антитела к KIR и количество антитела к PD-1 в комбинации, которое, как клинически доказано, обеспечивает значительное уменьшение злокачественной опухоли или замедление прогрессирования такой злокачественной опухоли, как солидная опухоль на поздней стадии.

Используемые в настоящем документе термины "фиксированная доза", "постоянная доза" и "постоянно фиксированная доза" используются взаимозаменяемо и относятся к дозе, которую вводят пациенту независимо от массы или площади поверхности тела (BSA) пациента. Фиксированную или постоянную дозу, следовательно, не представляют в виде дозы, выраженной в мг/кг, а чаще в виде абсолютного количества средства (например, антитела к KIR и/или антитела к PD-1).

Используемый в настоящем документе термин "основанная на площади поверхности тела доза (BSA)" относится к дозе (например, антитела к KIR и/или антитела к PD-1), которую регулируют на основании площади поверхности тела (BSA) конкретного пациента. Основанная на BSA доза может быть представлена в виде мг/кг массы тела. Были опубликованы различные расчеты для получения BSA без прямого измерения, наиболее используемая из которых представляет собой формулу Du Bois (см. Du Bois D., Du Bois E.F. (Jun 1916) Archives of Internal Medicine 17 (6): 863-71; и Verbraecken, J. et al. (Apr 2006). Metabolism - Clinical and Experimental 55 (4): 515-24). Другие иллюстративные формулы для расчета BSA включают в себя формулу Mosteller (Mosteller R.D. N. Engl. J. Med., 1987; 317:1098), формулу Haycock (Haycock G.B., et al., J. Pediatr 1978, 93:62-66), формулу Gehan and George (Gehan E.A., George S.L., Cancer Chemother Rep. 1970, 54:225-235), формулу Boyd (Current, J.D. (1998), The Internet Journal of Anesthesiology 2 (2); и Boyd, Edith (1935), University of Minnesota. The Institute of Child Welfare, Monograph Series, No. x. London: Oxford University Press), формулу Fujimoto (Fujimoto S., et al., Nippon Eiseigaku Zasshi 1968; 5:443-50), формулу Takahira (Fujimoto S. et al., Nippon Eiseigaku Zasshi 1968; 5:443-50), и формулу Schlich (Schlich E., et al., Ernährungs Umschau 2010; 57:178-183).

Термин "антитело" описывает полипептиды, содержащие по меньшей мере один происходящий из антитела антигенсвязывающий сайт (например, область VH/VL или Fv или CDR). Антитела включают в себя известные формы антител. Например, антитело может представлять собой человеческое антитело, гуманизированное антитело, биспецифическое антитело или химерное антитело. Антитело также может представлять собой Fab, Fab', ScFv, SMIP, Affibody®, нанотело или доменное антитело. Антитело также может относиться к любому из следующих изотипов: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgAsec, IgD и IgE. Антитело может представлять собой встречающееся в природе антитело или может представлять собой антитело, которое было изменено (например, с помощью мутации, делеции, замены, конъюгации с не относящимся к антителу фрагментом). Например, антитело может включать в себя одну или несколько вариантных аминокислот (по сравнению со встречающимся в природе антителом), которые изменяют свойство (например, функциональное свойство) антитела. Например, такие различные изменения известны в настоящей области техники, которые воздействуют, например, на период полужизни, эффекторную функцию и/или иммунные ответы на антитело у пациента. Термин антитело также включает в себя искусственные полипептидные конструкции, которые содержат по меньшей мере один происходящий из антитела антигенсвязывающий сайт.

Используемый в настоящем документе термин "Ig-подобный рецептор клетки-киллера", "ингибирующий рецептор клетки-киллера", или "KIR", относится к белку или полипептиду, кодируемому геном, который представляет собой представителя семейства генов KIR, или кДНК, полученной из такого гена. Подробный обзор семейства генов, включая в себя номенклатуру генов KIR и генных продуктов KIR и регистрационные номера Genbank для иллюстративных KIR, представляет собой "The KIR Gene Cluster" M. Carrington and P. Norgman, доступный на веб-сайте NCBI, имеющим название "Bookshelf (доступный по интернет-адресу (WWW) ncbi.nlm.nih.gov/books). Последовательности генов KIR и кДНК человека, а также их белковые продукты доступны в общедоступных базах данных, включая в себя GenBank. Неограничивающие иллюстративные данные GenBank относительно KIR человека характеризуются следующими регистрационными номерами: KIR2DL1: регистрационный номер Genbank U24076, NM_014218,

AAR16197 или L41267; KIR2DL2: регистрационный номер Genbank U24075 или L76669; KIR2DL3: регистрационный номер Genbank U24074 или L41268; KIR2DL4: регистрационный номер Genbank X97229; KIR2DS1: регистрационный номер Genbank X89892; KIR2DS2: регистрационный номер Genbank L76667; KIR2DS3: регистрационный номер Genbank NM_012312 или L76670 (сплайс-вариант); KIR3DL1: регистрационный номер Genbank L41269; и KIR2DS4: регистрационный номер Genbank AAR26325. KIR может содержать от 1 до 3 внеклеточных доменов и может содержать длинный (т.е. больше 40 аминокислот) или короткий (т.е. меньше 40 аминокислот) цитоплазматический хвост. Как описано ранее в настоящем документе, указанные признаки определяют номенклатуру KIR. Иллюстративные молекулы KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3 и KIR2DS4 содержат полипептиды, характеризующиеся следующими соответствующими аминокислотными последовательностями:

Внеклеточный домен KIR2DL1:

HEGVHRKPSLLAHPGXLVKSEETVILQCWSDVMFEHLLHREGMFNDTLRLI
 GENHDGVSKANFSISRMTQDLAAGTYRCYGSVTHSPYQVSAPSDPLDIVIIGLYEKPSLS
 AQXGPTVLAGENVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHERRLPAGPKVNGTFQADFPLGP
 ATHGGTYRCFGSFHDSPEYWSKSSDPLLVSVTGNPSNSWSPTEPSSKTGNPRHLH

(SEQ ID NO: 13), где "X" в положении 16 представляет собой P или R, и где "X" в положении 114 представляет собой P или L, представляя аллельные варианты.

Внеклеточный домен KIR2DL2:

HEGVHRKPSLLAHPGRLVKSEETVILQCWSDVRFHLLHREGKFKDTLHLIG
 ENHDGVSKANFSIGPMMQDLAAGTYRCYGSVTHSPYQLSAPSDPLDIVITGLYEKPSLS
 AQPPTVLAGESVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHECRFSAGPKVNGTFQADFPLGP
 ATHGGTYRCFGSFRDSPYEWSSSDPLLVSIVGNPSNSWSPTEPSSKTGNPRHLH

(SEQ ID NO:14)

Внеклеточный домен KIR2DL3:

HEGVHRKPSLLAHPGPLVKSEETVILQCWSDVRFQHLLHREGKFKDTLHLIG
 ENHDGVSKANFSIGPMMQDLAAGTYRCYGSVTHSPYQLSAPSDPLDIVITGLYEKPSLS
 AQPPTVLAGESVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHERRFSAGPKVNGTFQADFPLGP
 ATHGGTYRCFGSFRDSPYEWSSSDPLLVSIVGNPSNSWSPTEPSSKTGNPRHLH

(SEQ ID NO:15)

Внеклеточный домен KIR2DS4:

QEGVHRKPSFLALPGHLVKSEETVILQCWSDVMFEHLLHREGKFNNTLHLIG
 ENHDGVSKANFSIGPMPVLAGTYRCYGSVPHSPYQLSAPSDPLDMV (SEQ ID
 NO:16)

Термин "KIR2DL2/3" относится к любому или обоим рецепторам KIR2DL2 и KIR2DL3. Указанные два рецептора характеризуются очень высокой гомологией, кодируются аллельными формами одного и того же гена и рассматриваются в настоящей области техники как функционально аналогичные.

Используемые в настоящем документе термины "белок программируемой смерти 1", "белок программируемой клеточной смерти 1", "белок PD-1", "PD-1", "PD1", "PDCD1", "hPD-1" и "hPD-1" используются взаимозаменяемо и включают в себя варианты, изоформы, видовые гомологи PD-1 человека и аналоги, характеризующиеся по меньшей мере одним общим эпитопом с PD-1. Полную последовательность PD-1 можно найти под регистрационным номером GenBank U64863 (SEQ ID NO: 29).

Белок программируемой смерти 1 (PD-1) представляет собой ингибирующего представителя семейства рецепторов CD28, которое также включает в себя CD28, CTLA-4, ICOS и BTLA. PD-1 экспрессируется на активированных В-клетках, Т-клетках и миелоидных клетках (Agata et al., ранее; Okazaki et al. (2002) *Curr. Opin. Immunol.* 14: 391779-82; Bennett et al. (2003) *J. Immunol* 170:711-8). Первые представители семейства CD28 и ICOS были открыты по функциональным эффектам на увеличение Т-клеточной пролиферации после добавления моноклональных антител (Hutloff et al. (1999) *Nature* 397:263-266; Hansen et al. (1980) *Immunogenetics* 10:247-260). PD-1 был открыт посредством скрининга в отношении дифференциальной экспрессии в апоптических клетках (Ishida et al. (1992) *EMBO J.* 11:3887-95). Другие представители семейства CTLA-4 и BTLA были открыты посредством скрининга в отношении дифференциальной экспрессии в цитотоксических Т-лимфоцитах и TH1-клетках соответственно. Все из CD28, ICOS и CTLA-4 характеризуются неспаренным остатком цистеина, обеспечивающим возможность гомодимеризации. Напротив, PD-1, как предполагают, существует в виде мономера, у которого отсутствует неспаренный остаток цистеина, характерный для других представителей семейства CD28.

Ген PD-1 представляет собой 55 кДа трансмембранный белок I типа, который является частью надсемейства генов Ig (Agata et al. (1996) *Int Immunol* 8:765-72). PD-1 содержит мембранный проксимальный тирозиновый ингибирующий мотив иммунорецептора (ITIM) и мембранный дистальный тирозиновый

мотив переключения (ITSM) (Thomas, M.L. (1995) *J. Exp. Med.* 181:1953-6; Vivier, E. and Daeron, M. (1997) *Immunol. Today* 18:286-91). Несмотря на структурное сходство с CTLA-4, PD-1 не содержит мотив MYPPTY, который является критически важным для связывания B7-1 и B7-2. Были определены два лиганда для PD-1, PD-L1 и PD-L2, которые, как было показано, отрицательно регулируют Т-клеточную активацию 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). Как PD-L1, так и PD-L2 представляют собой гомологи B7, которые связываются с PD-1, но не связываются с другими представителями семейства CD28. PD-L1 распространен в разнообразных злокачественных опухолях человека (Dong et al. (2002) *Nat. Med.* 8:787-9). Взаимодействие между PD-1 и PD-L1 приводит к уменьшению инфильтрирующих опухоль лимфоцитов, снижению опосредованной Т-клеточными рецепторами пролиферации и ускользанию злокачественных клеток от механизмов иммунологического надзора (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 может стать обратимым путем ингибирования локального взаимодействия PD-1 с PD-L1, и эффект является аддитивным, если также блокируется взаимодействие PD-1 с PD-L2 (Iwai et al. (2002) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 99:12293-7; Brown et al. (2003) *J. Immunol.* 170:1257-66).

С учетом того, что PD-1 является ингибирующим представителем семейства CD28, дефицитные по PD-1 животные развивают различные аутоиммунные фенотипы, включая в себя аутоиммунную кардиомиопатию и волчаночноподобный 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 развитии аутоиммунного энцефаломиелита, системной красной волчанки, реакции "трансплантат против хозяина" (GVHD), сахарного диабета I типа и ревматоидного артрита (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). В мышинной В-клеточной опухолевой линии было показано, что ITSM PD-1 является необходимым для блокирования опосредованного BCR тока Ca^{2+} и фосфорилирования тирозина нижележащих эффекторных молекул (Okazaki et al. (2001) *PNAS* 98:13866-71).

IIa. Антитела к KIR.

Антитела к KIR человека (или происходящие из них домены VH/VL), подходящие для применения согласно настоящему изобретению, могут быть получены с применением способов, хорошо известных в настоящей области техники. Альтернативно, можно использовать принятые в настоящей области техники антитела к KIR. Согласно предпочтительным вариантам осуществления антитело к KIR является перекрестно-реагирующим с многочисленными ингибирующими рецепторами KIR и потенцирует цитотоксичность NK-клеток, содержащих один или несколько указанных рецепторов. Например, антитело к KIR может связываться с каждым из KIR2D2DL1, KIR2DL2 и KIR2DL3, и потенцировать NK-клеточную активность путем снижения, нейтрализации и/или реверсии ингибирования NK-клеточной цитотоксичности, опосредованной любым или всеми этими KIR. Согласно дополнительным вариантам осуществления антитело к KIR не связывает KIR2DS4 и/или KIR2DS3. Например, можно использовать моноклональные антитела 1-7F9 (также известное как IPH2101), 14F1, 1-6F1 и 1-6F5, описанные в международной патентной публикации WO 2006/003179, содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки. Также можно использовать антитела, которые конкурируют с любым из указанных принятых в настоящей области техники антител за связывание с KIR. Дополнительные принятые в настоящей области техники антитела к KIR, которые могут быть использованы, включают в себя, например, антитела, описанные в международных патентных публикациях №№ WO 2005/003168, WO 2005/009465, WO 2006/072625, WO 2006/072626, WO 2007/042573, WO 2008/084106, WO 2010/065939, WO 2012/071411 и WO/2012/160448.

Иллюстративное антитело к KIR представляет собой лирилумаб (также имеющий название BMS-986015, IPH2102 или в международной патентной публикации WO 2008/084106 имеющий название 1-7F9(S241P)), содержащий тяжелые и легкие цепи, характеризующиеся последовательностями, представленными в SEQ ID NO: 1 и 2 соответственно, или их антигенсвязывающими фрагментами и вариантами. Лирилумаб представляет собой полностью человеческое антитело к KIR, которое содержит такие же переменные области тяжелой и легкой цепи, что и 1-7F9 (описанный в международной патентной публикации WO 2006/003179), и, таким образом, связывается с таким же эпитопом, что и 1-7F9, но отличается от 1-7F9 тем, что (1) его получают в клетках яичника китайского хомячка (CHO), тогда как 1-7F9 получают из клеток гибридомы, и (2) в лирилумаб была введена стабилизирующая мутация шарнирной области (S231P) (международная патентная публикация WO 2008/084106).

Согласно другим вариантам осуществления антитело содержит CDR или переменные области тяжелой и легкой цепи лирилумаба. Соответственно, согласно одному варианту осуществления антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VH лирилумаба, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VL лирилумаба, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 5. Согласно другому варианту осуществления антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, характеризующиеся последовательностями, представленными в SEQ ID NO: 7, 8, и 9 соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3

легкой цепи, характеризующиеся последовательностями, представленными в SEQ ID NO: 10, 11 и 12 соответственно. Согласно другому варианту осуществления антитело содержит области VH и/или VL, характеризующиеся аминокислотными последовательностями, представленными в SEQ ID NO: 3 и/или SEQ ID NO: 5 соответственно. Согласно другому варианту осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и/или переменную область легкой цепи (VL), кодируемые последовательностями нуклеиновой кислоты, представленными в SEQ ID NO: 4 и/или SEQ ID NO: 6 соответственно. Согласно другому варианту осуществления антитело конкурирует за связывание и/или связывается с таким же эпитопом на KIR, что и вышеупомянутые антитела. Согласно другому варианту осуществления антитело характеризуется по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью аминокислотной последовательности переменной области с вышеупомянутыми антителами (например, по меньшей мере приблизительно 90%, 95% или 99% идентичностью переменной области с SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 5).

IIb. Антитела к PD-1.

Антитела к PD-1 человека (или происходящие из них домены VH и/или VL), подходящие для применения согласно настоящему изобретению, могут быть получены с применением способов, хорошо известных в настоящей области техники. Альтернативно, можно использовать принятые в настоящей области техники антитела к PD-1. Например, могут быть использованы моноклональные антитела 5C4 (в настоящем документе имеющий название ниволумаб), 17D8, 2D3, 4H1, 4A11, 7D3 и 5F4, описанные в международной патентной публикации WO 2006/121168, содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки. Другие известные антитела к PD-1 включают в себя ламбролизумаб (МК-3475), описанный как h409A11 в международной патентной публикации WO 2008/156712, и AMP-514, описанный в международной патентной публикации WO 2012/145493, содержания которых включены в настоящий документ посредством ссылки. Также известные антитела к PD-1 и другие ингибиторы PD-1 включают в себя те, которые описаны в международных патентных публикациях WO 2009/014708 и WO 2009/114335, содержания которых включены в настоящий документ посредством ссылки. Также могут быть использованы антитела, которые конкурируют с любым из указанных принятых в настоящей области техники антител за связывание с PD-1.

Иллюстративное антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб, содержащий тяжелые и легкие цепи, характеризующиеся последовательностями, представленными в SEQ ID NO: 17 и 18 соответственно, или их антигенсвязывающими фрагментами и вариантами. Согласно другим вариантам осуществления антитело содержит CDR или переменные области тяжелой и легкой цепи ниволумаба. Соответственно, согласно одному варианту осуществления антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 VH ниволумаба, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 VL ниволумаба, характеризующейся последовательностями, представленными в SEQ ID NO: 21. Согласно другому варианту осуществления антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, характеризующиеся последовательностями, представленными в SEQ ID NO: 23, 24 и 25 соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, характеризующиеся последовательностями, представленными в SEQ ID NO: 26, 27 и 28 соответственно. Согласно другому варианту осуществления антитело содержит области VH и/или VL, характеризующиеся аминокислотными последовательностями, представленными в SEQ ID NO: 19 и/или SEQ ID NO: 21 соответственно. Согласно другому варианту осуществления антитело содержит переменные области тяжелой цепи (VH) и/или переменные области легкой цепи (VL), кодируемые последовательностями нуклеиновой кислоты, представленными в SEQ ID NO: 20 и/или SEQ ID NO: 22 соответственно. Согласно другому варианту осуществления антитело конкурирует за связывание и/или связывается с таким же эпитопом на PD-1, что и вышеупомянутые антитела. Согласно другому варианту осуществления антитело характеризуется по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью аминокислотной последовательности переменной области с вышеупомянутыми антителами (например, по меньшей мере приблизительно 90%, 95% или 99% идентичностью переменной области с SEQ ID NO: 19 или SEQ ID NO: 21).

III. Фармацевтические композиции.

Фармацевтические композиции, подходящие для введения пациентам-людям, как правило, вводят в состав для парентерального введения, например, в жидком носителе, или они являются подходящими для разведения до жидкого раствора или суспензии для внутривенного введения.

В общем, такие композиции, как правило, содержат фармацевтически приемлемый носитель. Используемый в настоящем документе термин "фармацевтически приемлемый" означает одобренный государственным регуляторным органом или приведенный в перечне Фармакопеи США или другой общепризнанной фармакопеи для применения у животных, в частности у людей. Термин "носитель" относится к разбавителю, адьюванту, вспомогательному веществу или инертному носителю, вместе с которым вводят соединение. Такие фармацевтические носители могут представлять собой такие стерильные жидкости, как вода и масла, включая в себя масла, полученные из нефти, масла животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло, глицеролполиэтиленгликольтрицинолеат и подобное. Воду или водный солевой раствор и водные растворы декстрозы и глицерина можно использовать в качестве носителей, в частности, для рас-

творов для инъекций (например, содержащих антитело к KIR или антитело к PD-1). Жидкие композиции для парентерального введения могут быть введены в состав для введения с помощью инъекции или непрерывной инфузии. Пути введения с помощью инъекции или инфузии включают в себя внутривенный, интраперитонеальный, внутримышечный, интратекальный и подкожный. Согласно одному варианту осуществления антитела к KIR и/или антитела к PD-1 вводят внутривенно (например, отдельно или вместе, каждое, например, в течение курса, составляющего 1 ч, 90 мин или 2 ч).

IV. Популяции пациентов.

В настоящем документе предусмотрены эффективные способы лечения злокачественной опухоли (например, рефрактерных солидных опухолей на поздней стадии или гематологических злокачественных опухолей) у пациента-человека с применением комбинации антитела к KIR и антитела к PD-1.

Поскольку указанные способы действуют путем усиления иммунного ответа за счет блокирования ингибирующих рецепторов на Т-клетках и NK-клетках, они являются применимыми к очень широкому диапазону злокачественных опухолей. Согласно одному варианту осуществления пациент-человек страдает от немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), почечно-клеточного рака (RCC), меланомы (например, кожной или интраокулярной злокачественной меланомы), колоректального рака или серозной карциномы яичника. Примеры дополнительных злокачественных опухолей, которые могут поддаваться лечению с применением комбинации антитела к PD-1 и антитела к KIR, включают в себя злокачественную опухоль печени, злокачественную опухоль кости, злокачественную опухоль поджелудочной железы, злокачественную опухоль кожи, злокачественную опухоль головы или шеи, злокачественную опухоль молочной железы, злокачественную опухоль легкого, злокачественную опухоль матки, злокачественную опухоль толстой кишки, злокачественную опухоль прямой кишки, злокачественную опухоль анальной области, злокачественную опухоль желудка, злокачественную опухоль яичка, злокачественную опухоль матки, карциному фаллопиевых труб, карциному эндометрия, карциному шейки матки, карциному влагалища, карциному вульвы, неходжкинскую лимфому, злокачественную опухоль пищевода, злокачественную опухоль тонкого кишечника, злокачественную опухоль эндокринной системы, злокачественную опухоль щитовидной железы, злокачественную опухоль паращитовидной железы, злокачественную опухоль надпочечника, саркому мягкой ткани, злокачественную опухоль мочеиспускательного канала, злокачественную опухоль полового члена, солидные опухоли детства, лимфоцитарную лимфому, злокачественную опухоль мочевого пузыря, злокачественную опухоль почки или мочеточника, карциному почечной лоханки, новообразование в центральной нервной системе (CNS), первичную лимфому ЦНС, опухолевый ангиогенез, опухоль оси позвоночника, глиому ствола головного мозга, аденому гипофиза, саркому Капоши, плоскоклеточную карциному, плоскоклеточная злокачественная опухоль, вызванные факторами окружающей среды злокачественные опухоли, включая в себя злокачественные опухоли, вызванные асбестом, гематологические злокачественные опухоли, включая в себя, например, множественную миелому, В-клеточную лимфому, ходжкинскую лимфому/первичную медиастинальную В-клеточную лимфому, неходжкинские лимфомы, острую миелоидную лимфому, хронический миелогенный лейкоз, хронический лимфоидный лейкоз, фолликулярную лимфому, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, лимфому Беркитта, иммунобластную крупноклеточную лимфому, В-лимфобластную лимфому из клеток-предшественников, лимфому из клеток мантийной зоны, острый лимфобластный лейкоз, фунгоидную гранулему, анапластическую крупноклеточную лимфому, Т-клеточную лимфому и Т-лимфобластную лимфому из клеток-предшественников, и любые комбинации указанных злокачественных опухолей. Настоящее изобретение также применимо для лечения метастазирующих злокачественных опухолей.

Пациентов могут тестировать и выбирать по одному или нескольким из описанных выше клинических свойств до лечения, во время него или после лечения.

V. Комбинированная терапия.

Предусмотренные в настоящем документе комбинированные виды терапии включают введение антитела к KIR и другого антитела, которое блокирует ингибирующий иммунный рецептор (например, рецептор, который при связывании со своим природным лигандом, ингибирует/нейтрализует активность, такую как цитотоксическая активность), такого как антитела к PD-1, для лечения субъектов, пораженных злокачественной опухолью (например, рефрактерными солидными опухолями на поздней стадии).

Согласно одному варианту осуществления настоящее изобретение включает антитело к KIR и антитело к PD-1 в комбинации для лечения субъектов, характеризующихся наличием солидной опухоли (например, рефрактерной солидной опухоли на поздней стадии). Согласно конкретному варианту осуществления антитело к KIR представляет собой лирилумаб. Согласно другому варианту осуществления антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб.

Используемый в настоящем документе адьювантное или комбинированное введение (совместное введение) включает в себя одновременное введение соединений в одинаковой или различной лекарственной форме, или отдельное введение соединений (например, последовательное введение). Таким образом, антитела к KIR и антитела к PD-1 могут быть введены одновременно в одном составе. Альтернативно, антитела к KIR и антитела к PD-1 могут быть введены в составы для отдельного введения и их вводят одновременно или последовательно.

Например, антитело к PD1 может быть введено вначале с последующим (например, последующим сразу же) введением антитела к KIR, или наоборот. Согласно одному варианту осуществления антитело к PD-1 вводят до введения антитела к KIR в 1 и 29 дни. Согласно другому варианту осуществления антитело к KIR вводят не позже чем через 30 мин после антитела к PD-1. Такое одновременное или последовательное введение предпочтительно приводит к тому, что оба антитела одновременно присутствуют в организмах подвергаемых лечению пациентов.

VI. Протоколы лечения.

Подходящие протоколы лечения для лечения пациента-человека, пораженного злокачественной опухолью, включают в себя, например, введение пациенту эффективного количества каждого из следующего:

(а) антитело к KIR, содержащее домены CDR1, CDR2 и CDR3 в варибельной области тяжелой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 в варибельной области легкой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 5,

(b) антитело к PD-1, содержащее домены CDR1, CDR2 и CDR3 в варибельной области тяжелой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 в варибельной области легкой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 21,

причем способ включает по меньшей мере один цикл введения, при этом цикл представляет собой период из восьми недель, причем для каждого из по меньшей мере одного цикла две дозы антитела к KIR вводят в дозе, составляющей 0,1-20 мг/кг массы тела, и четыре дозы антитела к PD-1 вводят в дозе, составляющей 0,1-20 мг/кг массы тела.

Согласно определенным вариантам осуществления каждую дозу антитела к KIR вводят в количестве, составляющем 0,1, 0,3, 1, 3, 6, 10 или 20 мг/кг. Согласно предпочтительным вариантам осуществления каждую дозу антитела к KIR вводят в количестве, составляющем 0,3, 1 или 3 мг/кг.

Согласно другим вариантам осуществления каждую дозу антитела к PD-1 вводят в количестве, составляющем 0,1, 0,3, 1, 3, 6, 10 или 20 мг/кг массы тела. Согласно предпочтительным вариантам осуществления каждую дозу антитела к PD-1 вводят в количестве, составляющем 0,3, 1, 3 или 10 мг/кг. Согласно более предпочтительным вариантам осуществления антитело к PD-1 вводят в дозе, составляющей 3 мг/кг.

Согласно одному варианту осуществления антитело к KIR и антитело к PD-1 вводят в следующих дозах:

- (a) 0,1 мг/кг антитела к KIR и 3 мг/кг антитела к PD-1;
- (b) 0,3 мг/кг антитела к KIR и 3 мг/кг антитела к PD-1;
- (c) 1 мг/кг антитела к KIR и 3 мг/кг антитела к PD-1;
- (d) 3 мг/кг антитела к KIR и 3 мг/кг антитела к PD-1;
- (e) 6 мг/кг антитела к KIR и 3 мг/кг антитела к PD-1 или
- (f) 10 мг/кг антитела к KIR и 3 мг/кг антитела к PD-1.

Согласно другому варианту осуществления доза антитела к KIR и/или антитела к PD-1 варьирует с течением времени. Например, антитело к KIR и/или антитело к PD-1 могут вначале вводить в высокой дозе и ее могут снижать со временем. Согласно другому варианту осуществления антитело к KIR и/или антитело к PD-1 вначале вводят в низкой дозе и ее повышают со временем.

Согласно другому варианту осуществления количество вводимых антител к KIR и/или антител к PD-1 является постоянным для каждой дозы. Согласно другому варианту осуществления количество вводимого антитела варьирует для каждой дозы. Например, поддерживающая (или ступенчатая) доза антитела может быть выше или такой же, как и насыщающая доза, которую вводят вначале. Согласно другому варианту осуществления поддерживающая доза антитела может быть ниже или такой же, как и насыщающая доза.

Согласно другому варианту осуществления антитела к KIR и/или антитела к PD-1 вводят в составы для внутривенного введения. Согласно одному варианту осуществления антитело к PD-1 вводят в 1, 15, 29 и 43 день каждого цикла. Согласно другому варианту осуществления антитело к KIR вводят в 1 и 29 день каждого цикла.

Согласно другим вариантам осуществления антитела к KIR и/или антитела к PD-1 вводят один раз в неделю, один раз каждые две или три недели, один раз в месяц или до тех пор, пока наблюдается клинический эффект или пока не имеет место полный ответ, подтвержденное прогрессирующее заболевание или неконтролируемая токсичность.

Согласно другому варианту осуществления цикл введения составляет восемь недель, что можно повторить при необходимости. Согласно другому варианту осуществления лечение состоит из вплоть до 12 циклов.

Согласно другому варианту осуществления 4 дозы антитела к PD-1 вводят за каждый восьминедельный цикл. Согласно другому варианту осуществления 2 дозы антитела к KIR вводят за каждый восьминедельный цикл.

Согласно другому варианту осуществления антитело к PD-1 и антитело к KIR вводят в качестве первой линии лечения (например, стартового или первоначального лечения). Согласно другому варианту осуществления антитело к PD-1 и антитело к KIR вводят в качестве второй линии лечения (например, после стартового или первоначального лечения, включая в себя лечение после рецидива и/или в случае неудачи первоначального лечения).

Согласно другому аспекту настоящее изобретение включает любой из вышеупомянутых вариантов осуществления, причем антитело к PD-1 замещают антителом к PD-L1 или антителом к PD-L2 или комбинируют с антителом к PD-L1 или антителом к PD-L2.

VII. Результаты.

По отношению к целевым поражениям ответы на терапию могут включать в себя

Полный ответ (CR) (RECIST V1.1)	Исчезновение всех целевых поражений. Какие-либо патологические лимфатические узлы (целевые или нецелевые) должны характеризоваться снижением по короткой оси до < 10 мм.
Частичный ответ (PR) (RECIST V1.1)	По меньшей мере 30% уменьшение суммы диаметров целевых поражений, принимая в качестве эталона исходные суммарные диаметры.

<p>Прогрессирующее заболевание (PD) (RECIST V1.1)</p>	<p>По меньшей мере 20% увеличение суммы диаметров целевых поражений, принимая за эталон наименьшую сумму за исследование (она включает в себя исходную сумму, если она является наименьшей за исследование). В дополнение к относительному увеличению на 20%, сумма должна также демонстрировать абсолютное увеличение по меньшей мере на 5 мм. (Примечание: появление одного или нескольких новых поражений также рассматривается как прогрессирование).</p>
<p>Стабильное заболевание (SD) (RECIST V1.1)</p>	<p>Отсутствует как достаточное сокращение размера, чтобы квалифицироваться как PR, а также отсутствует достаточное увеличение, чтобы квалифицироваться как PD, принимая за эталон наименьший суммарный диаметр за исследование.</p>
<p>Связанный с иммунитетом полный ответ (irCR) (irRECIST)</p>	<p>Исчезновение всех целевых поражений. Любые патологические лимфатические узлы (целевые или нецелевые) должны характеризоваться снижением по короткой оси до < 10 мм.</p>
<p>Связанный с иммунитетом частичный ответ (irPR) (irRECIST)</p>	<p>По меньшей мере 30% уменьшение суммы диаметров целевых поражений и всех новых поддающихся измерению поражений (т.е. процентное изменение опухолевой нагрузки), принимая за эталон исходный суммарный диаметр. Примечание: появление новых поддающихся измерению поражений учитывается при расчете общей опухолевой нагрузки, но не</p>

	<p>квалифицируется автоматически как прогрессирующее заболевание, пока сумма диаметров не увеличивается на $\geq 20\%$ по сравнению с самым низким уровнем.</p>
<p>Связанное с иммунитетом прогрессирующее заболевание (irPD) (irRECIST)</p>	<p>По меньшей мере 20% увеличение опухолевой нагрузки (т.е. сумма диаметров целевых поражений и любых новых поддающихся измерению поражений) принимая за эталон наименьшую сумму за исследование (она включает в себя исходную сумму, если она является наименьшей за исследование). В дополнение к относительному увеличению на 20%, сумма также должна демонстрировать абсолютное увеличение по меньшей мере на 5 мм. Оценки опухоли с использованием связанных с иммунитетом критериев в отношении прогрессирующего заболевания включают в себя учет новых поддающихся измерению поражений. Каждое чистое процентное изменение опухолевой нагрузки на оценку учитывает размер и кинетику роста как старых, так и новых поражений при их появлении.</p>
<p>Связанное с иммунитетом стабильное заболевание (irSD) (irRECIST)</p>	<p>Отсутствует как достаточное сокращение размера, чтобы квалифицироваться как irPR, а также отсутствует достаточное увеличение, чтобы квалифицироваться как irPD, принимая за эталон наименьший суммарный диаметр за исследование.</p>

В отношении нецелевых поражений ответы на терапию могут включать в себя

Полный ответ (CR) (RECIST V1.1)	Исчезновение всех нецелевых поражений. Все лимфатические узлы не должны быть не патологическими в размере (<10 мм короткой оси).
Не-CR/не-PD (RECIST V1.1)	Постоянное присутствие одного или нескольких нецелевых поражений.
Прогрессирующее заболевание (PD) (RECIST V1.1)	Однозначное прогрессирующее существование нецелевых поражений. Появление одного или нескольких новых поражений также рассматривается как прогрессирующее.
Связанный с иммунитетом полный ответ (irCR) (irRECIST)	Исчезновение всех нецелевых поражений. Все лимфатические узлы должны быть не патологическими в размере (< 10 мм короткой оси).
Связанное с иммунитетом прогрессирующее заболевание (irPD) (irRECIST)	Увеличения количества или размера нецелевого(ых) поражения(й) не рассматривается как прогрессирующее заболевание, если только/пока опухолевая нагрузка не увеличивается на 20% (т.е. сумма диаметров целевых поражений при самом низком уровне и любых новых поддающихся измерению поражений увеличивается на требуемое значение). Нецелевые поражения не рассматриваются в определении стабильного заболевания и частичного ответа.

Пациенты, которые получают лечение согласно раскрытым в настоящем документе способам предпочтительно испытывают улучшение по меньшей мере одного признака злокачественной опухоли. Согласно одному варианту осуществления улучшение измеряют по снижению количества и/или размера поддающихся измерению опухолевых поражений. Согласно другому варианту осуществления поражения можно измерить на рентгенографических снимках органов грудной клетки или снимках КТ или МРТ. Согласно другому варианту осуществления цитологию или гистологию можно применять для оценки ответа на терапию.

Согласно одному варианту осуществления получающий лечение пациент проявляет полный ответ (CR), частичный ответ (PR), стабильное заболевание (SD), связанный с иммунитетом полный ответ (irCR), связанный с иммунитетом частичный ответ (irPR) или связанное с иммунитетом стабильное заболевание (irSD). Согласно другому варианту осуществления получающий лечение пациент испытывает сокращение размера опухоли и/или уменьшение скорости ее роста, т.е. подавление роста опухоли. Согласно другому варианту осуществления нежелательная клеточная пролиферация снижается или ингибируется. Согласно другому варианту осуществления может происходить одно или несколько из следующего: количество злокачественных клеток может снижаться; размер опухоли может снижаться; инфильтрация злокачественных клеток в периферические органы может ингибироваться, задерживаться, замедляться или останавливаться; метастазирование опухоли может замедляться или ингибироваться; рост опухоли может ингибироваться; рецидив опухоли может предотвращаться или задерживаться; один или несколько симптомов, связанных со злокачественной опухолью, может до некоторой степени облегчаться.

Согласно другим вариантам осуществления введение эффективных количеств антитела к KIR и антитела к PD-1 согласно любому из предусмотренных в настоящем документе способов производит по меньшей мере один терапевтический эффект, выбранный из группы, состоящей из снижения размера опухоли, снижения количества метастатических поражений, появляющихся с течением времени, полной

ремиссии, частичной ремиссии или стабильного заболевания. Согласно другим вариантам осуществления способы лечения производят сопоставимую частоту клинической эффективности ($CBR = CR + PR + SD \geq 6$ месяцев), которая лучше, чем достигаемая антителом к KIR или антителом к PD-1 отдельно. Согласно другим вариантам осуществления улучшение частоты клинической эффективности составляет приблизительно 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или больше по сравнению с антителом к KIR или антителом к PD-1 отдельно.

VIII. Наборы и стандартные лекарственные формы.

Также в настоящем документе предусмотрены наборы, которые включают в себя фармацевтическую композицию, содержащую такое антитело к KIR, как лирилумаб, и такое антитело к PD-1, как ниволумаб, и фармацевтически приемлемый носитель, в терапевтически эффективном количестве, адаптированном для применения в предыдущих способах. Наборы необязательно также могут включать в себя инструкции, например, содержащие схемы введения, для обеспечения возможности для практикующего клинициста (например, лечащего врача, медсестры или пациента) ввести содержащуюся в нем композицию для введения композиции пациенту со злокачественной опухолью (например, солидной опухолью). Набор также может включать в себя шприц.

Необязательно, наборы включают в себя состоящие из множественных элементов упаковки фармацевтических композиций для однократного введения, причем каждая содержит эффективное количество антитела к KIR или антитела к PD-1 для однократного введения в соответствии с предусмотренными выше способами. Инструменты или устройства, необходимые для введения фармацевтической(их) композиции(й), также могут быть включены в наборы. Например, в наборе может быть предусмотрен один или несколько предварительно заполненных шприцов, содержащих количество антитела к KIR или антитела к PD-1.

Согласно одному варианту осуществления настоящее изобретение включает набор для лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, причем набор содержит:

(а) дозу антитела к KIR, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 в вариабельной области тяжелой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 в вариабельной области легкой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 5;

(b) дозу антитела к PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 в вариабельной области тяжелой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 в вариабельной области легкой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 21; и

(с) инструкции по применению антитела к KIR и антитела к PD-1 в описанных в настоящем документе способах.

Следующие примеры являются исключительно иллюстративными и не должны рассматриваться как ограничивающие объем настоящего раскрытия каким бы то ни было образом, поскольку многие варианты и эквиваленты станут очевидными для специалистов в настоящей области техники при прочтении настоящего раскрытия.

Содержания всех ссылок, данных Genbank, патентов и опубликованных патентных заявок, цитируемых в настоящей заявке, полностью включены в настоящий документ посредством ссылки.

Примеры

Пример 1. Доклиническая фармакология антитела к PD-1 (ниволумаба).

Ниволумаб представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело изотипа IgG4 (каппа), которое связывается с PD-1 с высокой аффинностью и специфичностью, таким образом, препятствуя связыванию с его лигандами PD-L1 и PD-L2 (см. международную патентную публикацию WO 2006/121168). Определили, что K_D для связывания ниволумаба с PD-1 составляет приблизительно 10^{-9} М по данным поверхностного плазмонного резонанса (Biacore) (см. международную патентную публикацию WO 2006/121168) и приблизительно $2,9 \times 10^{-12}$ М по данным биослойного интерферометрического анализа (ForteBio). Ниволумаб не связывается с другими родственными представителями семейства, такими как BTLA, CTLA-4, ICOS или CD28. Доклиническое испытание ниволумаба продемонстрировало, что связывание с PD-1 приводит к усиленной пролиферации Т-клеток и высвобождению интерферона-гамма (IFN- γ) *in vitro* (см. международную патентную публикацию WO 2006/121168). Аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепи ниволумаба представлены в SEQ ID NO: 1 и 2 соответственно.

Пример 2. Низкая токсичность антитела к PD-1 (ниволумаба) *in vivo*.

Токсикологические исследования на яванских макаках подтвердили, что ниволумаб хорошо переносился в дозах, составляющих вплоть до 50 мг/кг, которые вводили дважды в неделю в течение 27 доз. Относящиеся к лекарственному средству данные были ограничены обратимым снижением трийодтиронина (Т3) на 28% без сопутствующих отклонений от нормы в отношении других маркеров функции щитовидной железы (данные не показаны).

Пример 3. Клиническая фармакология и безопасность антител к PD-1.

По данным на май 2011 г. 273 субъекта получили лечение с помощью ниволумаба в четырех исследованиях I фазы. Одно из них представляло собой исследование субъектов с активной инфекцией гепатита С, два исследования представляло собой исследования с повышением дозы у субъектов со злокачественными опухолями на поздней стадии, и четвертое представляло собой комбинированное исследование с ипилимумабом. В общем 273 субъекта получили одну или несколько доз ниволумаба в дозах от 0,3 до 10 мг/кг. Максимально переносимой дозы (MTD) не достигли. Не наблюдали паттерна частоты возникновения, тяжести или взаимосвязи нежелательных явлений (АЕ) с дозой или с типом опухоли. 23 субъекта (8,4%) характеризовались серьезными нежелательными явлениями (SAE), связанными с ниволумабом.

В одном исследовании (CA209001) 39 субъектов получили однократную дозу ниволумаба в дозе 0,3, 1, 3 или 10 мг/кг с возможностью провести повторное лечение за три месяца. Все субъекты характеризовались по меньшей мере одним АЕ, и из них 35 (88%) были связаны с лечением. Наиболее частые АЕ независимо от причины представляли собой усталость (56%), тошноту (44%), протеинурию (38%), запор (33%), боли в спине (33%), сухость во рту (28%), рвоту (28%), сыпь (26%), одышку (26%) и потерю аппетита (23%). О связанных с лечением АЕ сообщили у 35 из 39 (90%) субъектов. Из них 11 испытывали АЕ 3 степени, и один субъект характеризовался пониженным количеством лимфоцитов 4 степени. Наблюдали 68 SAE и три были связаны с лечением (анемия 2 степени, гипотиреоз 2 степени и колит 3 степени). Среди 12 смертельных случаев ни один не рассматривали как связанный с ниволумабом.

В большом исследовании I фазы (CA209003), которое продолжается в настоящий момент, 169 субъектов получали многократные дозы ниволумаба в дозе 0,1, 0,3, 1, 3 и 10 мг/кг с интервалом каждые две недели. У 140 (83%) субъектов сообщали по меньшей мере об одном АЕ, наиболее распространенные из которых не отличались значительным образом от перечисленных выше. Это согласуется с данными в отношении безопасности, наблюдаемым при введении однократной дозы ниволумаба. Наиболее распространенные связанные с лечением АЕ представляли собой усталость (22%), сыпь (15%), зуд (11%), диарею (9%) и тошноту (8%). 65 (38%) субъектов испытывали АЕ 3 или 4 степени, и из них 23 субъекта характеризовались АЕ, связанными с лечением. У 58 (34%) субъектов сообщали о SAE, все из которых появлялись в группах лечения, получавших 1, 3 или 10 мг/кг, и из которых 16 (9%) субъектов характеризовались SAE, которые были связаны с лечением. Типы связанных с лечением SAE включали в себя эндокринопатии (гипертиреоз, гипофизит, вторичная адренокортикальную недостаточность, увеличенное содержание липазы), желудочно-кишечные токсические эффекты (боль в животе, тошноту, рвоту, дегидратацию, диарею, колит), гепатотоксические эффекты (гепатит, увеличенное содержание ALT, AST и щелочной фосфатазы), легочные токсические эффекты (одышку, пневмонит, синдром острой дыхательной недостаточности) и другие токсические эффекты (усталость, воспаление подкожной клетчатки, связанную с инфузией реакцию, миоклонию, злокачественное новообразование, миелодиспластический синдром). По данным на 30 ноября 2011 г. сообщалось о 33 смертельных исходах; два субъекта, получавших дозу, составляющую 0,1 мг/кг, восемь субъектов, получавших дозу, составляющую 1 мг/кг, три субъекта, получавших дозу, составляющую 3 мг/кг и 20 субъектов, получавших дозу, составляющую 10 мг/кг. 30 смертельных исходов рассматривались вторичными по отношению к прогрессирующему заболеванию, и один, как сообщали, произошел вследствие ишемической кардиомиопатии и рассматривался как не связанный с лекарственным средством. Два субъекта характеризовались связанными с лекарственным средством смертельными исходами. Один субъект, получавший лечение в дозе, составляющей 10 мг/кг, характеризовался пневмонитом 4 степени и умер с сепсисом 5 степени. У другого субъекта, получавшего лечение в дозе, составляющей 1 мг/кг, развился пневмонит 3 степени и синдром острой дыхательной недостаточности 4 степени, и он умер с сепсисом 5 степени. Ни один субъект, получивший стероиды до появления легочных симптомов, не выжил. Алгоритмы ведения, включая в себя применение иммунодепрессантов, таких как кортикостероиды и инфликсимаб для лечения пневмонита и синдрома острой дыхательной недостаточности, известны в настоящей области техники.

Предварительные результаты продемонстрировали клиническую активность в обоих испытаниях, приведенных выше. Из 39 субъектов в CA209001 три субъекта характеризовались частичным ответом (колоректальная карцинома, меланома и почечно-клеточный рак), и десять субъектов характеризовались стабильным заболеванием. В CA209003 91 субъект оценили в отношении ответа опухоли и о полных или частичных ответах сообщали в дозах, составляющих 1, 3 и 10 мг/кг у субъектов с немелкоклеточным раком легкого, почечно-клеточным раком и меланомой. Данные из указанных текущих клинических испытаний недавно опубликованы Topalian S.L., et al., *New Eng. J. Med.* 2012; 366(26):2443-2454 (см. также международную патентную публикацию WO 2008/156712 (h409A1 1) и Hamid O. et al., *New Eng. J. Med.* 2013; 369:134-144).

Пример 4. Фармакокинетика антитела к PP-1 (ниволумаба).

Фармакокинетический анализ однократной дозы на 39 субъектах со злокачественной опухолью, получавших ниволумаб в дозе 0,3, 1, 3 и 10 мг/кг, выявил, что медианное T_{max} в пределах однократных доз находилось в диапазоне от 1,6 до 3 ч с отдельными значениями в диапазоне от 0,9 до 7 ч. Фармакокинетика ниволумаба была линейной в диапазоне от 0,3 до 10 мг/кг с пропорциональными дозе повышениями максимальной концентрации в сыворотке (C_{max}) и площади под кривой зависимости концентрации от

времени от нулевого момента времени до бесконечности (AUC_{INF}), с изменчивостью между субъектами от низкой до умеренной, наблюдаемой при каждом значении дозы. Средний конечный период полувыведения ниволумаб составлял 17-25 дней, что согласуется с периодом полужизни эндогенного IgG4. Как выведение, так и распределение ниволумаба являлись независимыми от дозы (данные не показаны).

Пример 5. Клиническое испытание I фазы с IPH-2101.

IPH-2101 (также известный как 1-7F9 и описанный в международной патентной публикации WO 2006/003179) представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело к KIR, которое связывается специфически и с высокой аффинностью с KIR2DL-1, 2 и 3 и KIR2DS-1 и 2, таким образом, предотвращая взаимодействие между KIR и HLA-C. Клиническое испытание I фазы с IPH-2101 у пациентов с AML было завершено. Однократное введение в дозах, составляющих 0,0003, 0,003, 0,015, 0,075, 0,3, 1 и 3 мг/кг не достигло максимально переносимой дозы. Для исследования I фазы и три исследования II фазы продолжают на пациентах с AML или множественной миеломой. В указанных исследованиях исследовали различные уровни доз вплоть до 3 мг/кг с интервалом каждые четыре недели и максимальное количество вводимых циклов составляло шесть. Фармакокинетические исследования позволяют предположить, что период полувыведения составляет 12-14 дней в дозах, выше 0,3 мг/кг. В дозе, составляющей 0,075 мг/кг, полную занятость KIR (>90%) наблюдали в течение меньше чем 7 дней. В дозе, составляющей 0,3 мг/кг, занятость KIR уменьшалась до меньше чем 90%, начиная с 28 дня. Продолжительная полная занятость KIR в течение четырех недель достигалась в дозе, составляющей 3 мг/кг.

На 1 декабря 2011 г. данные относительно клинической безопасности были доступны для 136 пациентов в указанных испытаниях. О нежелательных явлениях (АЕ) сообщали у 128 из 136 (94%) субъектов, и они включали в себя 183 из 734 (25%) сообщений, которые были возможно, вероятно или точно связаны с IPH-2101. АЕ, которые регистрировали у больше чем одного субъекта, включали в себя общие симптомы (озноб, лихорадка, усталость, слабость), симптомы со стороны желудочно-кишечного тракта (тошнота, рвота, диарея), неврологические симптомы (головокружение, головная боль, тремор), легочные симптомы (одышка), кожные симптомы (эритема, зуд, сыпь), другие (покраснение, гипертензия, мышечные спазмы, миалгия) и отклонения лабораторных показателей от нормы (гиперкалиемия, повышенное содержание липазы, пониженные количества лейкоцитов, нейтрофилов и тромбоцитов). Указанные явления в основном характеризовались 1 и 2 степенью и имели тенденцию к учащению в дозах, превышающих 1 мг/кг. Только один пациент с множественной миеломой испытывал серьезное нежелательное явление (SAE), которое было обусловлено острой почечной недостаточностью. Хотя это считается связанным с IPH-2101, пациент также характеризовался прогрессирующим заболеванием. В целом, IPH-2101 был переносимым в дозах от 0,0003 до 3 мг/кг.

Пример 6. Доклиническая фармакология антитела к KIR (лирилумаба).

Лирилумаб представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело IgG4, которое связывается специфически и с высокой аффинностью с подклассом KIR, а именно KIR2DL-1, 2 и 3 и KIR2DS-1 и 2. Поверхностный плазмонный резонанс продемонстрировал, что средняя моновалентная аффинность лирилумаба для рекомбинантного растворимого KIR2DL1 составляла $2,04 \times 10^{-8}$ М (стандартное отклонение $0,31 \times 10^{-8}$) и что для KIR2DL3 составляла $3,01 \times 10^{-10}$ М (стандартное отклонение $0,41 \times 10^{-10}$). Аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепи лирилумаба представлены в SEQ ID NO:17 и 18 соответственно.

Пример 7. Отсутствие токсичности антитела к KIR (лирилумаба) у мышей.

Ни лирилумаб, ни IPH-2101 не связывается с NK-клетками от не являющегося человеком примата или другого вида, традиционно используемого для испытания безопасности. Тем не менее, Ly49C/I представляют собой мышинные ингибирующие рецепторы, которые являются функционально гомологичными KIR человека. Не обнаружили никаких нежелательных явлений у мышей, которых лечили с помощью лирилумаба в дозе, составляющей 10 мг/кг один раз в неделю в течение четырех недель или с помощью суррогатного антитела к Ly49 5E6 F(ab')₂ дважды в неделю в течение 13 недель (данные не показаны).

Пример 8. Клиническая фармакология и безопасность антитела к KIR (лирилумаба).

Данные относительно безопасности для 136 субъектов, получивших лечение с помощью IPH-2101, описаны выше в примере 5. Лирилумаб содержит такие же переменные области тяжелой и легкой цепи, что и IPH-2101 (также известный как 1-7F9), и, таким образом, связывается с таким же эпитопом, что и IPH-2101, но отличается от IPH-2101 тем, что (1) его получают в клетках яичника китайского хомячка (СНО), тогда как IPH-2101 получают в клетках гибридомы, и (2) стабилизирующую мутацию шарнирной области (S231P) вводили в лирилумаб.

Предварительная фармакодинамическая оценка занятости KIR выявила, что все три субъекта, которые получали 0,015 мг/кг лирилумаба, характеризовались полным насыщением KIR2D (>90% занятость KIR) в течение меньше чем 1 недели. Субъекты, которые получали 0,3 мг/кг, характеризовались полным насыщением в течение по меньшей мере 8 недель, что продолжалось даже дольше у тех субъектов, которые получали повышенные дозы. Половина субъектов (0,015, 0,3, 1 и 3 мг/кг), включая в себя всех трех в последней исследованной когорте, характеризовались небольшими временными повышениями содержания интерферона-гамма (данные не показаны).

Кроме того, исследование I фазы, включающее в себя родственное антитело, IPH2101 (также обозначенное как 1-7F9 в международной патентной публикации WO 2006/003179), характеризующееся идентичными лирилумабу вариabельными областями, но не содержащее стабилизирующую мутацию шарнирной области S241P, полностью завершили для субъектов с гематологическими злокачественными опухолями на поздней стадии (Vey N. et al. (2012) Blood 120(22):4317-23). По данным на 7 мая 2012 г. 20 субъектов получили IPH2101 в дозах, составляющих 0,015, 0,3, 1, 3, 6 и 10 мг/кг. Шесть субъектов характеризовались наличием солидных опухолей (4 злокачественная опухоль яичника, 1 злокачественная опухоль эндометрия, 1 злокачественная опухоль молочной железы) и 14 характеризовались гематологическими злокачественными опухолями. Субъекты, получавшие пониженные три уровня дозы, получали четыре дозы, вводимые с интервалом каждые четыре недели. Субъекты, получавшие повышенные уровни дозы, составляющие 3, 6 и 10 мг/кг, получали одну дозу. Не наблюдалось никаких ограничивающих дозу токсичностей. Не наблюдали никакой тенденции в частоте АЕ в зависимости от уровня дозы. У 18 из 20 (90%) субъектов сообщали о АЕ. Большинство явлений характеризовались 1 степенью (65%) или 2 степенью (23%) тяжести. Из 111 АЕ в общем, 38 (34%) рассматривали как связанные с лирилумабом, наиболее распространенные из которых представляли собой усталость (16%), головную боль (13%), зуд (11%), астению (5%), запор (5%), гипертензию (5%), периферический отек (5%) и сыпь (5%). Наблюдали только одно явление 3 степени, которое было связано с лирилумабом, которое возникло у субъекта, получившего одну дозу, составляющую 6 мг/кг. Это было увеличение содержания липазы у субъекта, который был допущен к исследованию с увеличением содержания липазы 2 степени, которое вернулось к исходному уровню через 22 дня. SAE не наблюдали.

Пример 9. Фармакокинетика антитела к KIR (лирилумаба).

Фармакокинетические результаты из текущего исследования I фазы находятся в процессе рассмотрения. Тем не менее, PK модель позволяет предположить, что PK профиль лирилумаба, вероятно, сопоставим с IPH-2101. В предыдущих клинических испытаниях IPH-2101 I фазы у субъектов с AML и множественной миеломой было обнаружено, что 2-камерная модель с выведением первого порядка адекватно описывает данные в отношении зависимость от дозы выведения так, что выведение уменьшалось с повышением доз. Определили, что конечный период полувыведения при самой высокой дозе (3 мг/кг) составлял 18 дней, что согласуется со значениями, о которых сообщалось в литературе.

Пример 10. Ингибирование роста опухоли *in vivo* с помощью комбинированного лечения с применением антитела к KIR и антитела к PD-1.

Эксперимент проводили на мышинной модели солидной опухоли для исследования гипотезы о том, что комбинация антитела к KIR и антитела к PD-1 будет потенцировать противоопухолевую эффективность. Целесообразным было использовать фармацевтические манипуляции, чтобы координированно регулировать врожденный и приобретенный иммунитет и обобщить биологические механизмы, наблюдаемые у пациентов после аллогенной трансплантации, которые характеризовались несоответствием по KIR. Как ниволумаб (антитело к PD-1 человека) и лирилумаб (антитело к KIR человека) распознают только человеческие последовательности. Таким образом, специфические для мышей антитело к PD-1, антитело к Ly49 и F(ab)₂, которые распознают Ly49C/I (который представляет собой гомолог KIR у мышей), использовали для исследования указанной гипотезы.

Мышам вводили инъекцию сингенной клеточной линии карциномы толстой кишки мыши MC38 и после образования пальпируемых опухолей мышей рандомизировали в одну из четырех когорт для получения контрольного IgG, антитела к Ly49, антитела к PD-1 или обоих антител. Как показано на фиг. 1, мыши, которые получили лечение с помощью контрольного антитела IgG, характеризовались быстрым ростом опухолей (см. верхнюю левую панель фиг. 1). Мыши, получившие лечение с помощью антитела к Ly49, не отличались существенно от контрольных животных (нижняя левая панель фиг. 1). Мыши, получившие лечение с помощью мышинового антитела к PD-1, показали латентность в прогрессировании опухоли, и 30% мышей продолжали оставаться не пораженными опухолями (см. верхнюю правую панель фиг. 1). Мыши, получившие лечение с помощью как антитела к Ly49, так и антитела к PD-1, также характеризовались латентностью в прогрессировании опухоли и 60% мышей характеризовались регрессией образовавшихся опухолей (см. нижнюю правую панель фиг. 1). Указанные результаты предоставляют доклиническое доказательство способности антитела к KIR синергически (т.е. больше чем аддитивно) потенцировать эффективность антитела к PD-1 в мышинной модели солидной опухоли.

Пример 11. Испытание I фазы у пациентов с солидными опухолями.

Испытание I фазы антитела к KIR (лирилумаба) и антитела к PD-1 (ниволумаба) проводят у пациентов с солидными опухолями на поздней стадии для того, чтобы продемонстрировать эффективность, включая в себя синергический эффект введения лирилумаба и ниволумаба в качестве комбинированного лечения (NCT01714739; Sanborn et al., 2013).

1. Цели.

Одной целью настоящего исследования является оценить безопасность и переносимость лирилумаба, который вводят в комбинации с ниволумабом, и идентифицировать ограничивающие дозу токсичности (DLT) и максимально переносимую дозу (MTD) комбинации, у субъектов с солидными опухолями на поздней стадии (метастазирующими и/или неоперабельными).

Другие цели включают в себя оценку предварительной противоопухолевой активности комбинации лирилумаба и ниволумаба у субъектов с солидными опухолями на поздней стадии, определение фармакокинетики (РК) лирилумаба и ниволумаба при совместном введении, мониторинг иммуногенности лирилумаба и ниволумаба, введенных в качестве комбинированной терапии и оценку фармакодинамического эффекта в опухолевой ткани на подкласс инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL) от субъектов с меланомой, получивших лечение с помощью лирилумаба, который вводили в комбинации с ниволумабом.

Дополнительные цели включают в себя оценку фармакодинамических эффектов лирилумаба в зависимости от дозы и/или воздействия, введенного в комбинации с ниволумабом, на биомаркеры в периферической крови, включая в себя NK-клеточный и T-клеточный компартменты и белки сыворотки (цитокины и другие иммунные модуляторы), оценку фармакодинамической активности в опухолевой ткани и периферической крови у субъектов, получивших лечение с помощью лирилумаба и ниволумаба, которых подвергали необязательным биопсиям, исследование взаимосвязей между измеренными значениями биомаркеров и противоопухолевой активностью, дополнительную характеристику занятости KIR и функцию NK при многочисленных уровнях дозы лирилумаба, введенного в комбинации с ниволумабом, оценку потенциальной взаимосвязи генотипа KIR и HLA субъекта с клиническим результатом и оценку общей выживаемости в стандартных временных точках через три года после начала терапии с помощью комбинации лирилумаба и ниволумаба.

2. Схема и длительность исследования.

Исследование представляет собой открытое исследование I фазы и его проводили в двух частях. Первая часть исследования состоит из оценки повышения дозы на безопасность и переносимость лирилумаба, вводимого с ниволумабом у субъектов с солидными опухолями на поздней стадии. Вторая часть исследования включает в себя 6 расширенных когорт из приблизительно 16 субъектов каждая, которым вводили максимально переносимую дозу (MTD), максимально вводимую дозу (MAD) или аналогичную дозу. Эта часть была ограничена относительно заболевания.

Субъекты проходят вплоть до четырех периодов исследования: скрининг (до 28 дней), лечение (максимум до 2 лет терапии в исследовании), последующее клиническое наблюдение (100 дней) и последующее наблюдение относительно продолжительности выживаемости (до 3 лет после первой дозы исследуемого лекарственного средства). Период лечения состоит из до 12 восьминедельных циклов лечения. Каждый цикл лечения включает 4 дозы ниволумаба и 2 дозы лирилумаба. Ниволумаб вводят в 1, 15, 29 и 43 день и лирилумаб вводят в 1 и 29 день каждого цикла лечения. В дни, когда вводят оба исследуемых лекарственных средства, ниволумаб вводят вначале с последующим введением лирилумаба не позднее, чем 30 мин после завершения 60-минутной инфузии ниволумаба. После каждого цикла лечения решение о том, лечить ли субъекта с помощью дополнительных циклов исследуемой терапии, основано на оценке опухоли (оценку проводят между 49 и 56 днями и завершают до введения первой дозы в следующем цикле). Решения относительно лечения, связанные с ведением субъекта, основаны исключительно на связанных с иммунитетом (ir) критериях ответа, irRECIST (Wolchok J.D., et al, Clin. Cancer Res. 2009; 15:7412-7420). Субъектам с общим ответом, соответствующим следующему: неподтвержденный irPD, irSD, irPR или неподтвержденный irCR в конце данного цикла, проводят следующий цикл лечения. Субъектам, как правило, разрешают продолжать исследуемую терапию до первого появления любого из следующего: 1) достижение подтвержденного irCR; 2) завершение максимального числа циклов, 3) достижение подтвержденного ir-PD, 4) клиническое ухудшение, указывающее на то, что не возможен дальнейший эффект от лечения, 5) непереносимость терапии; или 6) субъект отвечает критериям для прекращения терапии согласно исследованию. Субъекты начинают период последующего клинического наблюдения с графиком визитов на 30, 60 и 100 день для мониторинга нежелательных явлений.

После завершения периода последующего клинического наблюдения субъекты начинают период последующего наблюдения относительно продолжительности выживаемости. В течение указанного периода проводят клинические визиты или контакт по телефону каждые 3 месяца для оценки статуса выживаемости. Длительность указанного периода составляет до 3 лет после первой дозы исследуемого лекарственного средства. Исследование схематически изображено на фиг. 2.

Субъекты, находящиеся на стадии полной ремиссии, но у которых наблюдается прогрессирование в периоде последующего клинического наблюдения или периоде последующего наблюдения относительно продолжительности выживаемости, имеют право получать оба исследуемых лекарственных средства в тех же дозах и по той же схеме, что они получали ранее. Терапия продолжается, пока не достигается подтвержденный irCR или в течение периода, составляющего один год. Субъекты должны отвечать всем критериям отбора для участия в исследовании. Исследуемое лекарственное средство предусмотрено посредством расширения исследования, возобновления исследования, требующего одобрения ответственного органа здравоохранения и комитета по биоэтике или посредством другого механизма.

Период скрининга продолжается до 28 дней. Период лечения продолжается до 2 лет. Период последующего клинического наблюдения продолжается 100 дней. Период последующего наблюдения относительно продолжительности выживаемости продолжается до 3 лет после первой дозы исследуемого лекарственного средства. Общее время на исследование отдельного субъекта не превышает 3,1 года. Об-

щая длительность исследования составляет 4,5 года со времени первого визита первого субъекта до требуемого последующего наблюдения относительно продолжительности выживаемости последнего вовлеченного субъекта.

3. Повышение дозы.

Схему 6+3 используют для оценки безопасности лирилумаба, вводимого в комбинации с ниволумабом. Дозировки во время повышения дозы представлены ниже в табл. 1.

Таблица 1

Дозировки во время повышения дозы			
Уровень дозы	Общее количество субъектов	лирилумаб (IV; мг/кг)	ниволумаб (IV; мг/кг)
1	n = приблизительно 6-12	0,1	3
2	n = приблизительно 6-12	0,3	3
3	n = приблизительно 6-12	1	3
4	n = приблизительно 6-12	3	3
Общий	n = приблизительно 24-48		

Период наблюдения в отношении ограничивающей дозу токсичности (DLT) длится в течение 8 недель (цикл 1). Шесть субъектов получают лечение при каждом уровне дозы с расширением до 9 субъектов, если две ограничивающих дозу токсичности наблюдаются у первых 6 субъектов. Если 0 или 1 DLT появляется в когорте из 6 субъектов, новая когорта из 6 субъектов получает лечение с помощью следующего повышенного уровня дозы. Если появляется 2 из 6 DLT, эту когорту расширяют до 9 субъектов. Если 3 или больше из 6 или 3 или больше из 9 субъектов испытывают DLT в пределах когорты, то указанный уровень дозы определяют как превышающий максимально переносимую дозу (MTD). Если MTD не достигается в 4 когорте, то дополнительные когорты, получающие 6 мг/кг лирилумаба и 10 мг/кг BMS 986015, вводимых в комбинации с 3 мг/кг ниволумаба, включают на основании обобщенного опыта в отношении безопасности во время повышения дозы.

Для дальнейшего исследования возникающих сигналов в отношении безопасности во время повышения дозы в общем до 12 субъектов вводили любой уровень дозы. Дополнительное включение в исследование допускали только тогда, когда уровень дозы в когорте оценили и признали безопасной для повышения дозы. Только DLT у исходных 6-9 субъектов, вовлеченных при указанном уровне дозы, формально оценивали в повышении дозы и последующем определении MTD. Тем не менее, данные относительно безопасности от всех получивших лечение субъектов рассматривают в выборе дозы для расширения когорты.

Не допускают никакого повышения или снижения дозы с пределов субъекта. Субъектов, которых вывели из исследования в течение периода DLT по причинам, отличным от DLT, заменяют в пределах того же уровня дозы. С целью принятия решений о повышении дозы с безопасной перспективой, субъектов рассматривали как поддающихся оценке, если они получили 3 из 4 предусмотренных схемой доз ниволумаба в течение 8-недельного периода наблюдения, только если одна пропущенная доза была вторичной по отношению к немедицинским причинам.

Повышение дозы основано на числе ограничивающих дозу токсичностей (DLT), испытанных в течение цикла 1. Исходным 6 субъектам при каждом уровне дозы проводили оценку периферической крови в отношении маркеров PD.

Все доступные клинические и лабораторные данные и природа, время появления и время прекращения DLT, наблюдаемых во время повышения дозы, рассматривают для определения того, следует ли исследовать альтернативную схему дозировки, если она необходима. Если это согласовано, альтернативную схему идентифицируют путем поправки к протоколу.

4. Расширение когорты.

Целью расширений когорты является сбор дополнительной информации относительно безопасности, переносимости, предварительной эффективности и фармакодинамической информации в отношении комбинации лирилумаба и ниволумаба. Как только получены характеристики профиля безопасности всех исследуемых доз и определена MTD комбинированного введения лирилумаба и ниволумаба, начинают расширение когорты при MTD, максимально вводимой дозе (MAD) или аналогичной дозе. Шесть расширенных когорт ограничивают по типам опухолей, перечисленным ниже в табл. 2.

Типы опухолей, подходящие для участия в расширении когорты	
Тип опухоли	Общее количество субъектов
Немелкоклеточная злокачественная опухоль легкого – плоскоклеточная гистология	приблизительно 16
Немелкоклеточная злокачественная опухоль легкого – неплоскоклеточная гистология	приблизительно 16
Почечно-клеточный рак со светлоклеточным компонентом	приблизительно 16
Меланома	приблизительно 16
Колоректальный рак	приблизительно 16
Серозная карцинома яичника	приблизительно 16
В общем	приблизительно 96

Непрерывную оценку явлений токсичности при расширении когорт проводят в течение всего включения в исследования с расширенными когортами. Если степень DLT превышает 33%, данные обсуждают и дальнейшее включение в исследование прерывают. Если расширенную когорту прерывают вследствие токсичности, новую когорту начинают с ранее исследованного пониженного уровня дозы.

Непрерывную оценку явлений токсичности при расширении когорт проводят в течение всего включения в исследования с расширенными когортами. Если степень DLT превышает 33%, данные обсуждают и дальнейшее включение в исследование прерывают. Если расширенную когорту прерывают вследствие токсичности, новую когорту начинают с ранее исследованного пониженного уровня дозы.

5. Виды лечения.

Исследуемые виды лечения включают в себя ниволумаб и лирилумаб. В табл. 1 указан уровень дозы, используемый для каждой панели. Расширенные когорты получают лечение с помощью самой высокой исследуемой дозы или другим уровнем дозы, который выбирает заказчик клинического исследования. В отношении визитов для получения лечения, при которых вводят как лирилумаб, так и ниволумаб, ниволумаб вводят вначале с последующим введением лирилумаба не позднее чем через 30 мин после завершения инфузии ниволумаба.

6. Ограничивающие дозу токсичности.

Лирилумаб характеризуется потенциалом к увеличению частоты и тяжести описанных ранее нежелательных явлений, связанных с ниволумабом, или к развитию новых токсичностей. Ограничивающую дозу токсичность (DLT) определяют на основании частоты возникновения, интенсивности и длительности нежелательных явлений, которые связаны с исследуемым лекарственным средством, и которые возникают в пределах 56 дней (8 недель, по завершению цикла 1) от начала введения исследуемого лекарственного средства. Степень тяжести нежелательных явлений определяют согласно NCI CTCAEv4. Печеночные, негематологические и гематологические DLT определяют отдельно, как представлено ниже.

Любое из приведенных ниже явлений рассматривают в качестве печеночной DLT:

ALT или AST >8X ULN, независимо от длительности,

ALT или AST >5X и <8X ULN, который не может восстановиться до 1 степени или менее за 5 дней, несмотря на медицинское вмешательство.

Общий билирубин 3 степени.

ALT или AST >3X ULN и сопутствующий общий билирубин >2X ULN.

Любое из приведенных ниже явлений рассматривают в качестве негематологической DLT:

глазная боль 2 степени или снижение остроты зрения, которые требуют системного лечения, глазная боль 2 степени или снижение остроты зрения, которые не отвечают на местную терапию и которые не улучшаются до 1 степени за 2 недели от начала местной терапии, непеченочная или негематологическая токсичность 3 степени, за следующими исключениями.

Следующие негематологические явления 3 степени не рассматривают в качестве DLT:

электролитное нарушение 3 степени, которое длится меньше чем 72 ч, не осложнено клинически и проходит спонтанно или отвечает на общепринятое медицинское вмешательство,

увеличение содержания амилазы или липазы 3 степени, которое не связано с клиническим или радиологическим подтверждением панкреатита,

тошнота или рвота 3 степени, которая длится меньше чем 48 ч и снижается до 1 степени или ниже либо спонтанно, либо с помощью общепринятого медицинского вмешательства,

лихорадка 3 степени, которая длится меньше чем 72 ч и не связана с гемодинамическими нарушениями (включая в себя гипотензию или клиническое или лабораторное подтверждение нарушения перфузии конечного органа),

эндокринопатия 3 степени, которая хорошо контролируется заместительной гормонотерапией,

транзиторное усугубление клинических проявлений опухоли 3 степени (определяемое как боль, раздражение или сыпь, которая локализована в местах, в которых, как известно или предположительно, находится опухоль),

усталость 3 степени,

реакция на инфузию 3 степени, которая снижается до 1 степени меньше чем за 6 ч.

Любое из приведенных ниже явлений рассматривают в качестве гематологической DLT:

нейтропения 4 степени, которая длится дольше чем 5 дней,

тромбоцитопения 4 степени,

тромбоцитопения 3 степени, связанная с клинически значимым кровотечением,

фебрильная нейтропения 3 степени, которая длится дольше чем 48 ч,

гемолиз 3 степени.

7. Руководства для модификации дозы.

В настоящем исследовании не допускали повышения или снижения дозы лирилумаба и BMS-986558 в пределах одного субъекта для того, чтобы обеспечить лучшую оценку расширенной безопасности и эффективности при конкретных уровнях дозы.

Субъекты, которые испытывают DLT, должны продолжать терапию, ожидая устранения токсичности. Если нежелательное явление снижается до 1 степени или ниже или до исходного уровня в отношении тяжести за 28 дней, то терапия возвращается на те же дозы для обоих исследуемых лекарственных средств. Если токсичность проходит через 28 дней, и исследователь считает, что субъект получает клинический эффект, то субъект подходит для возобновления получения исследуемых лекарственных средств. Если субъект затем испытывает последующую DLT, которая также проходит, и исследователь продолжает считать, что субъект получает клинический эффект, то субъект подходит для возобновления получения исследуемых лекарственных средств.

Требуется прекращение без возможности восстановления прием субъектами обоих исследуемых лекарственных средств в случае следующего.

Любое нежелательное явление 4 степени, за исключением следующего: электролитные нарушения 4 степени, которые проходят за ≤ 72 ч, нейтропения 4 степени длительностью ≤ 5 дней или лимфопения 4 степени длительностью ≤ 5 дней.

Любое нежелательное явление с клиническим риском оценивают в индивидуальном порядке для определения рисков и эффективности продолжения терапии после их прекращения по сравнению с прекращением терапии без возможности восстановления. Явления высокой степени, охватывающие центральную нервную систему, глаза, печень или легкие, как правило, будут требовать прекращения терапии без возможности восстановления, если только не существуют элементы истории индивидуума и клинического течения, которые указывают на повышенную вероятность пользы по сравнению с риском при продолжении терапии после прекращения нежелательного явления.

8. Оценки безопасности.

Нежелательные явления оценивают непрерывно в течение исследования и в течение 100 дней после последнего введения. Нежелательные явления кодируют с использованием наиболее современной версии MedDRA и рассматривают в отношении потенциальной значимости и важности. Нежелательные явления оценивают согласно NCI CTCAE версии 4.0. Субъекты должны подвергаться последующему наблюдению до восстановления всех связанных с лечением нежелательных явлений до исходного уровня или до момента, пока исследователь не посчитает их необратимыми.

9. Оценки эффективности.

Оценку заболевания с помощью компьютерной томографии (КТ) и/или ядерно-магнитного резонанса (МРТ), в соответствующих случаях, проводят на исходном уровне и каждые 8 недель до подтвержденного прогрессирования заболевания, при завершении периода последующего наблюдения или до исключения субъектов из исследования. Оценки заболевания в другие временные точки проводят, если исследователь обеспокоен прогрессированием опухоли. Ответы опухоли определяют для соответствующих популяций субъектов, определенных RECIST v1.1 (Eisenhauer E.A., Eur. J. Cancer 2009; 45:228-247), а также с помощью критериев, связанных с иммунитетом ответов, irRECIST (Wolchok J.D., et al. Clin Cancer Res. 2009; 15:7412-7420). Решения в отношении лечения, связанные с ведением субъекта, основаны исключительно на критериях irRECIST. Полученные при сканировании изображения и измерения собирают централизованно для того, чтобы их рассмотрели независимые рентгенологи с использованием критериев irRECIST и/или RECIST v1.1 в дальнейшем или в любое время в течение исследования.

Изменения в измерениях опухоли и ответах опухоли оценивает исследователь с применением критериев irRECIST. Исследователи также сообщают число и размер новых поражений, которые появляются во время исследования. Оценки опухоли в различные временные точки регистрируют на CRF на основании оценки исследователя с использованием критериев irRECIST. Кроме того, оценки в различные временные точки RECIST v1.1 получают программным путем.

10. Оценки диагностической эффективности.

Данные общей выживаемости собирают в течение до 3 лет от начала лечения исследуемым лекарственным средством. Образцы сыворотки для оценок РК лирилумаба и/или ниволумаба собирают для всех субъектов как в исследованиях с повышением дозы, так и в исследованиях с расширенной когортой. Фармакокинетику лирилумаба выводят из зависимости концентрации в сыворотке от времени. Оцененные фармакокинетические параметры включают в себя

C _{max}	Максимальная наблюдаемая концентрация в сыворотке
T _{max}	Время максимальной наблюдаемой концентрации в сыворотке
AUC(0-T)	Площадь под кривой зависимости концентрации в плазме от времени с нулевого момента времени до времени последней определяемой количественно концентрации
AUC(INF)	Площадь под кривой зависимости концентрации в плазме от времени с нулевого момента времени, экстраполированного до бесконечности
C _{trough}	Остаточная наблюдаемая концентрация в сыворотке
AUC(TAU)	Площадь под кривой зависимости концентрации от времени в одном интервале дозирования
CL	Клиренс
V _{ss}	Объем распределения в равновесном состоянии
t _{1/2}	Период полувыведения

Значения фармакокинетических параметров конкретного субъекта получают с использованием не-компаратментных способов с помощью утвержденной программы фармакокинетического анализа. Для анализа используют фактическое время. Кроме того, концентрации по окончании инфузии ниволумаба и остаточные (C_{min}) концентрации рассчитывают во время специальных визитов.

Образцы сыворотки анализируют в отношении лирилумаба и ниволумаба с помощью утвержденного иммуноанализа. Кроме того, образцы объединяют для потенциального диагностического фармакокинетического анализа с помощью ортогонального биоаналитического способа (например, ЖХ/МС-МС).

11. Оценки диагностических биомаркеров.

Фармакодинамику лирилумаба и ниволумаба в комбинации оценивают путем количественного определения биомаркеров из периферической крови.

12. Оценки в отношении пациентов во время повышения дозы.

Функциональная оценка NK-клеток и T-клеток и занятость KIR.

Исследование.

PBMC перед лечением и во время лечения используют для изучения взаимоотношения между занятостью KIR (мишени лирилумаба) и NK-клеточной функцией, измеряемой с помощью CD107a, и внутриклеточной экспрессии INF γ с использованием проточной цитометрии в анализе сокультуры с суррогатными целевыми клетками. В частности, NK-клетки выделяют из PBMC и сокультивируют с целевыми клетками (положительными в отношении HLA I класса и отрицательными в отношении HLA I класса) в присутствии избытка лирилумаба для оценки индукции цитолитической активности NK из KIR-положительных клеток в зависимости от дозы, времени после введения дозы, степени занятости KIR и циркулирующего содержания лирилумаба (PK). Понимание взаимоотношения между функцией NK-клеток и занятостью KIR или циркулирующими содержаниями лирилумаба важно, чтобы установить оптимальную дозировку лекарственного средства и/или выбрать время оценки других биомаркеров. PBMC также используют для исследования эффектов лирилумаба и ниволумаба на T-клеточную функцию, измеряемую с помощью внутриклеточной экспрессии INF γ с применением проточной цитометрии. В частности, подклассы T-клеток инкубируют в планшетах, покрытых антителами к CD3, для оценки T-клеточной активации в зависимости от дозы, времени после введения дозы и циркулирующих содержания лирилумаба и ниволумаба (PK). Понимание взаимоотношения между активацией T-клеток и различными комбинациями дозы лирилумаба и ниволумаба важно, чтобы установить оптимальную дозировку лекарственного средства и/или выбрать время оценки других биомаркеров. Указанные исследования проводят у первых шести субъектов в каждой когорте соответствующей дозы.

Имунофенотипирование подклассов NK-клеток и T-клеток.

Относительное соотношение подклассов лимфоцитов оценивают из образцов периферической крови. Кроме того, PBMC используют для определения характеристик и количественного определения специфических маркеров ингибирования и активации на подклассах NK-клеток и T-клеток с помощью полихромной проточной цитометрии. Имунофенотипирование Treg-клеток включает в себя без ограничения HLA-DR, CD3, CD4, FoxP3, PD-L1, PD-1, LAG-3, ICOS и CD25. Имунофенотипирование T-клеток памяти/эффекторных T-клеток включает в себя без ограничения CCR7, CD45RA, CD27, CD28, CD3, CD4, CD8, Ki67, HLA-DR, PD-L1, PD-1, CTLA4 и ICOS. Имунофенотипирование NK-клеток включает в себя без ограничения CD56, CD3, CD16, CD54, CD94, KIR, NKG2D, NKp30, NKp46, IL-21R, Ki67, CD25 и гранзим В.

Анализ иммуномодуляции растворимых факторов.

Содержания в сыворотке хемокинов, цитокинов и других иммунных медиаторов перед лечением и

во время лечения оценивают с помощью техник, которые включают в себя без ограничения ELISA или мультиплексный анализ. Аналиты включают в себя маркеры иммунной активации, модуляции или воспаления, такие как IFN- γ , растворимые лиганды NKG2D (т.е. растворимые MICA) и sCD25.

Экспрессия KIR на NK-клетках.

Абсолютный подсчет KIR-положительных экспрессирующих клеток определяют из образцов периферической крови, собранной до лечения и во время лечения. Проточную цитометрию используют для оценки не только процентного отношения положительных KIR-экспрессирующих клеток (KIR2DL1/2/3), но также для подсчета количества экспрессии KIR.

13. Оценки в отношении пациентов во время расширения когорты.

Образцы крови получают от всех субъектов в исследовании с расширенной когортой перед лечением для выделения ДНК для определения генотипов KIR и HLA. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) используют для выявления генотипов, которые будут затем коррелировать с клиническим результатом после введения лирилумаба в комбинации с ниволумабом.

14. Оценки в отношении субъектов, подвергающихся процедурам биопсии опухоли.

Кровь получают от всех субъектов, которые дали согласие на проведение биопсии опухоли, для получения пар опухоль/нормальный образец. Биопсию опухоли проводят перед лечением и во время лечения (в конце 16 недели) у минимум десяти субъектов с меланомой в расширенной когорте. По любой причине, если субъект не подвергнут биопсии во время лечения, первый образец не включают как часть требования для 10 субъектов со спаренными образцами перед лечением и во время лечения. Субъектам предлагают возможность пройти биопсию после лечения при возможности. Всем другим субъектам также предлагают возможность пройти биопсию опухоли. Образцы опухоли используют для оценки специфических популяций инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (NK-клетки, Treg-клетки, CTL), присутствующих до, во время и, возможно, после терапии для оценки потенциального механизма действия и в качестве потенциального биомаркера ответа. Ассоциированную с опухолью экспрессию KIR на лимфоцитах также исследуют на образцах опухоли. Кроме того, экспрессируемые опухолью белки (т.е. PD-L1 и HLA I класса) оценивают с помощью ИГХ для определения взаимосвязей с клиническим ответом или фармакодинамическими эффектами на комбинацию лирилумаба и ниволумаба. Если есть приемлемое количество собранной ткани, срезы из биопсий опухоли, собранных перед лечением и во время лечения, криоконсервируют для возможного последующего анализа генной экспрессии.

Представляющие интерес гены включают в себя без ограничения PD-1, PD-L1, KIR и LAG-3. Одновременный сбор образцов периферической крови/сыворотки и опухолевой ткани (хоть и ограниченной числом биопсий опухоли) от одного и того же субъекта необходим, чтобы помочь понять и обнаружить корреляцию фармакодинамических явлений, являющихся результатом комбинированной блокады KIR и PD-1, и получить информацию о потенциальных механизмах или клиническом результате.

Минимум 10 субъектов с меланомой в расширенной когорте должны характеризоваться наличием по меньшей мере одного поражения, достаточно большого, чтобы быть подвергнутым повторным процедурам биопсии (биопсия перед лечением, во время лечения и, возможно, после лечения) с помощью толстой иглы (минимальный калибр 16) или должны характеризоваться наличием по меньшей мере двух отдельных поражений, подлежащих толстоигольной биопсии или эксцизионной биопсии. Указанные поражения не должны быть исключительно целевыми поражениями субъекта или местами, которые получили предшествующую лучевую терапию. Субъекты во всех других расширенных когортах получают возможность пройти биопсию, если это считается приемлемым в отношении клинического риска. Длина толстой иглы больше 5 мм. По меньшей мере две толстоигольные биопсии необходимо провести в каждый момент времени; но сбор дополнительных толстоигольных биопсий настоятельно рекомендуется, если исследователь посчитает это клинически безопасным. Прицельная биопсия с помощью биопсийных щипцов и эксцизионная биопсия также приемлемы. Оптимальный минимальный объем опухоли составляет 150 мм³. Патологическое подтверждение настоятельно рекомендуется в момент биопсии опухоли для подтверждения адекватного забора ткани и качества биопсии. Все собранные биоптаты должны содержать подробный патологический отчет, сопровождающий образец. Подробные инструкции относительно получения, обработки, мечения, манипуляций, хранения и транспортировки указанных образцов предусмотрены в отдельном методическом руководстве во время начала исследования. Субъектам, чья скрининговая биопсия дает в результате неадекватное качество или количество ткани, разрешают продолжить участие в исследовании. Этим субъектам замещают для получения 10 субъектов с биопсиями перед лечением. Если субъекты характеризуются ответом на лечение, проведение биопсии во время лечения и после него невозможно.

15. Оценки иммуногенности.

Образцы сыворотки для анализа развития ADA собирают совместно с анализом концентрации лирилумаба и ниволумаба в сыворотке и собирают от всех субъектов перед введением дозы в 1, 15 и 29 день цикла 1, 29 день цикла 2, 1 день цикла 3, в конце лечения и во время всех 3 визитов для последующего клинического наблюдения. Указанные образцы сыворотки анализируют в отношении ADA с помощью утвержденного иммуноанализа. Кроме того, образцы лирилумаба и ниволумаба объединяют для анализа потенциальной диагностической иммуногенности с помощью ортогонального биоаналитическо-

го способа (например, анализ иммунных комплексов лекарственного средства - ADA).

16. Нежелательные явления.

Нежелательное явление (АЕ) определяют как любое новое неблагоприятное медицинское явление или ухудшение предшествующего медицинского состояния у субъекта клинического исследования, которому вводят исследуемый (медицинский) продукт и которое необязательно характеризуется причинно-следственной связью с указанным лечением. АЕ, следовательно, может представлять собой любой неблагоприятный и непредусмотренный признак (такой как аномальные лабораторные данные), симптом или заболевание, по времени связанные с применением исследуемого продукта, независимо от того, связаны ли они с исследуемым продуктом.

Причинно-следственную связь с исследуемым лекарственным средством определяет лечащий врач, и ее необходимо использовать для оценки всех нежелательных явлений (АЕ). Причинно-следственной связью может быть одна из следующего.

Связанные: существует логичная причинно-следственная связь между введением исследуемого лекарственного средства и АЕ.

Не связанные: не существует логичной причинно-следственной связи между введением исследуемого лекарственного средства и АЕ.

Термин "логичная причинно-следственная связь" означает доказательство, указывающее на причинно-следственную связь.

Нежелательные явления могут спонтанно регистрироваться или исчезать во время не ограниченно-го временем опроса, обследования или оценки субъекта. (Для предотвращения систематической ошибки сообщения информации пациентом субъектов не должны опрашивать в отношении конкретного появления одного или нескольких АЕ).

Серьезное нежелательное явление (SAE) представляет собой любое неблагоприятное медицинское явление, которое при любой дозе

приводит к смертельному исходу,

угрожает жизни (определяется как явление, при котором субъект подвергается риску смертельного исхода во время явления; это не относится к явлению, которое гипотетически могло вызвать смерть, если бы было более тяжелым),

требует госпитализации в стационар или вызывает увеличение длительности существующей госпитализации,

приводит к постоянной или значительной нетрудоспособности/инвалидности,

представляет собой порок развития/врожденный порок,

представляет собой важное медицинское явление (определяемое как медицинское(ие) явление(я), которое(ые) не являются немедленно угрожающими жизни или приводящими к смерти или госпитализации, но на основании соответствующего медицинского и научного заключения подвергает субъекта опасности или требует вмешательства [например, медицинского, хирургического] для предотвращения одного из прочих серьезных результатов, перечисленных в определении выше). Примеры таких явлений включают в себя без ограничения интенсивную терапию в отделении неотложной медицинской помощи или на дому для аллергического бронхоспазма; патологические изменения со стороны крови или судороги, которые не приводят к госпитализации. Потенциально возможное ятрогенное поражение печени (DILI) также рассматривают в качестве важного медицинского явления.

Предполагаемая передача инфекционного агента (например, патогенного или непатогенного) посредством исследуемого лекарственного средства представляет собой SAE. Хотя беременность, передозировка, злокачественная опухоль и потенциально возможное ятрогенное поражение печени (DILI) не всегда являются серьезными по нормативным определениям, с указанными явлениями обращаются как с SAE. Любой компонент конечных показателей исследования, который считают связанным с исследуемой терапией (например, смерть представляет собой конечный показатель, если смерть произошла вследствие анафилаксии, регистрируют анафилаксию) должен регистрироваться как SAE.

Следующие госпитализации не рассматривают в качестве SAE:

визит в отделение интенсивной терапии или другое отделение стационара <24 ч, которое не завершилось поступлением (если не рассматривается важное медицинское или угрожающее жизни явление),

плановое оперативное вмешательство, запланированное до подписания согласия на исследование,

госпитализации по протоколу для запланированной медицинской/хирургической процедуры,

рутинная оценка состояния здоровья, требующая госпитализации для определения исходного состояния здоровья/тенденций изменений состояния здоровья (например, рутинная колоноскопия),

медицинская/хирургическая госпитализация, отличная от лечения болезненного состояния здоровья и запланированная до включения в исследование. В этом случае необходима соответствующая документации госпитализация, встречающаяся при другом жизненном обстоятельстве, которая не оказывает никакого влияния на состояние здоровья и не требует никакого медицинского/хирургического вмешательства (например, отсутствие жилья, экономическая некомпетентность, перерыв в работе сиделки, семейные обстоятельства, административные обстоятельства).

После подписания субъектом согласия на участие в исследовании все SAE, независимо от того, свя-

заны ли они или нет с исследуемым лекарственным средством, собирают, включая в себя явления, которые считают связанными со специфическими для протокола процедурами. Собирают все SAE, которые происходят во время периода скрининга и в пределах 100 дней от прекращения введения доз. Если это применимо, собирают SAE, которые относятся к любой проведенной позже специфической для протокола процедуре (например, биопсия кожи в период последующего наблюдения). Исследователь должен регистрировать любое SAE, возникающее после этих периодов времени, которое считается связанным с исследуемым лекарственным средством или специфической для протокола процедурой. Отчет о SAE необходимо завершать для любого явления, где существует сомнение относительно его статуса серьезности. Если исследователь считает, что SAE не связано с исследуемым лекарственным средством, но потенциально связано с условиями исследования (такими как досрочное прекращение предыдущей терапии или завершение процедуры исследования), взаимосвязь необходимо обозначить в описательной части формы отчета о SAE. О SAE, независимо от того, связаны они или нет с исследуемым лекарственным средством, и о беременностях сообщают в течение 24 ч.

Сбор информации о несерьезных АЕ должен начинаться в начале введения исследуемого лекарственного средства. Информацию о несерьезных АЕ также необходимо собирать, начиная с начала периода введения плацебо или другого периода наблюдения, предназначенного для установления исходного статуса субъектов.

Несерьезные АЕ необходимо сопровождать до исчезновения или стабилизации или сообщать о них как о SAE, если они становятся серьезными. В периоде последующего наблюдения также необходимо учитывать несерьезные АЕ, которые вызывают прерывание или прекращения введения исследуемого лекарственного средства и несерьезные АЕ, которые присутствуют в конце исследуемого лечения в соответствующих случаях. Все идентифицированные несерьезные АЕ регистрируют и описывают на странице несерьезных АЕ в ИРК (индивидуальная регистрационная карта) (бумажной или электронной). Заполнение дополнительных ИРК требуется для АЕ и/или отклонений лабораторных показателей от нормы, которые регистрируют/идентифицируют в течение курса исследования.

17. Статистические аспекты.

Повышение дозы: поскольку это представляет собой испытание с повышением дозы 1 фазы, размер образца при каждой дозе не может быть определен точно, поскольку он зависит от числа наблюдаемых токсичностей. От 6 до 9 субъектов приблизительно подвергают лечению во время повышения дозы при каждом уровне дозы, и до 12 субъектам вводят дозу при выбранных уровнях дозы. Использование схемы 6+3 обеспечивает 6 субъектов при каждой дозе для оценки сигнала о потенциальных фармакодинамических эффектах исследуемых биомаркеров.

Расширение когорты: во время расширения когорты приблизительно 16 субъектов включают в исследование каждого из 6 типов опухоли и вводят предварительно определенную MTD, MAD или аналогичную дозу. В расширенной когорте, если наблюдают 2 (12,5%), 3 (18,8%) или 4 (25%) ответа, то нижние границы 90% односторонних доверительных интервалов для частоты объективных ответов составляет 3,4%, 7,1% и 11,4% соответственно. Кроме того, 4 ответа необходимо зарегистрировать у 16 субъектов, чтобы 80% доверительный интервал был полностью выше 11% для частоты ответов. Указанные расчеты основаны на способе Клоппера-Пирсона для точных доверительных интервалов. Кроме того, если действительная частота объективных ответов (ORR) в типе опухоли/расширенной когорте составляет 15%, то у 16 пациентов в каждой когорте существует 72% шанс наблюдать по меньшей мере 2 ответа, и 44% шанс наблюдать по меньшей мере 3 ответа и существует 28% шанс наблюдать 0 или 1 ответ (относительное число ложноотрицательных заключений). Если действительная ORR в типе опухоли составляет 5%, а не 15%, то существует 19 и 4% соответственно, шанс того, что существует по меньшей мере 2 или по меньшей мере 3 ответа у 16 субъектов (относительное число ложноположительных заключений).

Популяции для анализов: набор данных всех включенных в исследование: субъекты, которые подписали проинформированное согласие и зарегистрированы в исследовании.

Набор данных всех получивших лечение: все субъекты, которые получают по меньшей мере одну дозу любого исследуемого лекарственного средства.

Набор данных поддающих оценке ответов: все получающие лечение субъекты, которые получают любое исследуемое лекарственное средство, характеризуются исходной оценкой опухоли с поддающимся определению заболеванием и одно из следующего:

по меньшей мере один поддающийся оценке во время лечения параметр оценки опухоли, клиническое прогрессирование или смерть перед первой оценкой опухоли во время лечения.

Набор фармакокинетических данных в отношении лирилумаба: все субъекты, которые получают по меньшей мере одну дозу лирилумаба и характеризуются адекватными данными относительно концентрации в сыворотке для РК лирилумаба.

Набор фармакокинетических данных в отношении ниволумаба: все субъекты, которые получают по меньшей мере одну дозу ниволумаба и характеризуются адекватной РК ниволумаба.

Набор данных в отношении иммуногенности лирилумаба: все субъекты, которые получают по меньшей мере одну дозу лирилумаба и характеризуются по меньшей мере одним доступным образцом

ADA.

Набор данных в отношении иммуногенности ниволумаба: все субъекты, которые получают по меньшей мере одну дозу ниволумаба и характеризуются по меньшей мере одним доступным образцом ADA.

Набор данных в отношении биомаркеров: все получившие лечение субъекты, которые характеризуются доступными данными в отношении биомаркера.

Определения конечных параметров: безопасность представляет собой главный конечный параметр в исследовании 1 фазы. Всех субъектов, которые получают по меньшей мере одну дозу лирилумаба или ниволумаба, оценивают в отношении безопасности, измеряемой по возникновению нежелательных явлений, серьезных нежелательных явлений, смертельных исходов и отклонений лабораторных показателей от нормы, оцениваемых во время лечения и в течение 100 дней в периоде последующего наблюдения.

Главной целью (для оценки безопасности и переносимости лирилумаба, вводимого в комбинации с ниволумабом, и для идентификации ограничивающих дозу токсичностей (DLT) и максимально переносимой дозы (MTD) комбинации) является измерение следующих основных конечных параметров:

а) частота возникновения нежелательных явлений: все несерьезные нежелательные явления собирают с 1 дня до 100 дня после последней дозы исследуемого лекарственного средства субъекта или до прекращения субъектами исследования. Все серьезные нежелательные явления собирают с даты подписания субъектом согласия на проведение исследования до 100 дней после прекращения дозирования или до прекращения субъектами исследования;

б) частота возникновения отклонений клинических лабораторных показателей от нормы, включая в себя гематологию и биохимию сыворотки и отклонения от нормы триеонидной панели, оцениваемых в конкретные временные точки.

Оценки основаны на сообщениях о нежелательных явлениях и результатах измерений основных показателей состояния организма, электрокардиограмм (ЭКГ), объективных обследованиях, исследованиях с визуализацией и клинических лабораторных исследованиях. Нежелательные явления классифицируют с использованием последней версии Словаря по нормативно-правовой деятельности в области медицины (MedDRA); степень как АЕ, так и лабораторных анализов определяют с использованием Общей терминологии критериев нежелательных явлений (CTCAE) v4 Национального института рака (NCI). Всех субъектов, которые получают терапию с помощью исследуемого лекарственного средства, оценивают в отношении безопасности, измеряемой по частоте нежелательных явлений (АЕ) и серьезных нежелательных явлений (SAE), и оценивают во время лечения и в период 100 дней при последующем наблюдении.

Вторичная цель оценки предварительной противоопухолевой активности основана на конечных параметрах, описанных с применением irRECIST (Wolchok J.D., et al., Clin Cancer Res. 2009; 15:7412-7420) и RECISTv1.1 (Eisenhauer E.A., Eur. J. Cancer 2009; 45:228-247). С целью ведения пациента принятие клинического решения основывают исключительно на irRECIST. Следовательно, оценки ответа опухоли в различные моменты времени регистрируют в ИРК на основании определенных исследователем оценок с применением критериев irRECIST. Статистический анализ и отчет базируются на обоих критериях.

Лучший общий ответ (BOR) представляет собой обозначение лучшего ответа, зарегистрированного от начала исследуемого лечения до окончания лечения, принимая во внимание любое требование в подтверждении на основании критериев RECIST v1.1 или irRECIST. Определения CR или PR, включенные в оценку BOR, подтверждают с помощью последующей вторичной (подтверждающей) оценки, отвечающей критериям для ответа, которые имеют место по меньшей мере через 4 недели после критериев для ответа, которым он соответствовал вначале. Указанные определяют на основании измерений опухоли, происходящих каждые 8 недель в течение периода лечения (1 день 1 цикла - 56 день 2 цикла) и один раз в течение периода последующего клинического наблюдения.

Конечные параметры на уровне исследования, используемые для оценки указанной цели, определяют следующим образом.

Частоту объективных ответов (ORR) определяют как общее количество субъектов, чья BOR является CR, или PR, деленное на общее количество субъектов в представляющей интерес популяции.

Длительность ответа (DOR), рассчитанную с помощью компьютера только для субъектов с CR или PR BOR, определяют как число дней между датой первого ответа и последующей датой объективного документированного прогрессирования заболевания на основании критериев (RECIST v1.1 или irRECIST) или смертью, смотря что произошло первым. Для тех субъектов, которые остались живы и не характеризуются прогрессированием или не получают последующую терапию, длительность ответа оценивают по дате последней оценки опухоли. Субъектов, которые получают последующую терапию, оценивают в начале последующей терапии.

Коэффициент выживаемости без прогрессирования (PFSR) определяют как вероятность того, что у субъекта будет отсутствовать прогрессирование, и он будет живым через 24 недели. Вероятность рассчитывают с помощью компьютера на основании числа дней между первой дозой исследуемого лекарственного средства и прогрессированием заболевания или смертью, что определяют с помощью каждого критерия. Для тех субъектов, кто выжил и не характеризуется прогрессированием, PFS оценивают по дате

последней оценки опухоли. Ее рассчитывают на основании измерений опухоли, происходящих каждые 8 недель в течение лечения и в запланированные временные точки в течение периода последующего клинического наблюдения.

Фармакокинетика (PK): максимальную концентрацию лирилумаба C_{\max} (мкг/мл), время до достижения максимальной концентрации T_{\max} (ч), площадь под кривой AUC_{TAU} (мкг·ч/мл), площадь под кривой AUC_{inf} (мкг·ч/мл), клиренс (л/день), объем распределения (V_{ss}), период полувыведения ($t_{1/2}$) и остаточную концентрацию C_{\min} (мкг/мл) оценивают с использованием некомпартментного анализа у всех исследуемых субъектов. Кроме того, концентрации по окончании инфузии ниволумаба и остаточные (C_{\min}) концентрации рассчитывают во время специального визита.

Иммуногенность: появление специфических антител к лекарственному средству лирилумабу и ниволумабу определяют по измерениям на 1, 3, 5, 13, 17 неделе, в конце лечения и во время всех 3 визитов в период последующего клинического наблюдения.

Биомаркеры: измерение экспрессии TIL, PD-L1 и HLA I класса с использованием иммуногистохимии на обязательных биоптатах опухоли от минимум десяти субъектов с меланомой из расширенной когорты, включая в себя исходный уровень и изменения от исходных результатов.

Диагностический(е) конечный(е) параметр(ы): биомаркеры из периферической крови будут включать в себя определения генотипов KIR и HLA, занятости KIR, анализы функции NK- и T-клеток, определения растворимых факторов, экспрессии KIR на NK-клетках. Общая выживаемость (OS) представляет собой диагностический конечный параметр эффективности.

18. Анализы.

Демографические и исходные характеристики: распределения частот относительно пола и расы заносят в таблицу. Собирают сводную статистику относительно возраста, массы тела и роста и выводят индекс массы тела (BMI).

Анализ эффективности: индивидуальный лучший общий ответ (BOR), длительность ответа и PFS вносят в список с использованием критериев RECIST v1.1 и irRECIST. Результаты BOR вносят в таблицу по типу заболевания и дозе. Предусмотрена частота объективных ответов (ORR) и коэффициент PFS (например, через 24 недели) и соответствующий доверительный интервал по типу опухоли и лечению. Длительность ответа, длительность стабильного заболевания и PFS оценивают по методике Каплан-Майера по типу заболевания в зависимости от доступности данных. Коэффициенты PFS через 24 недели оценивают аналогичным образом на основании методики Каплан-Майера. Анализы ORR, длительности ответа и PFS будут включать в себя субъектов в фазе расширения когорты и субъектов в фазе повышения дозы, совпадающих с субъектами в фазе расширения когорты по типу заболевания и лечению. Индивидуальные изменения в опухолевой нагрузке с течением времени представляют графически в пределах типа заболевания. Общую выживаемость в стандартных временных точках оценивают как часть анализа диагностической эффективности с помощью графиков Каплан-Майера и медиан для каждого типа опухоли.

Анализ безопасности: все зарегистрированные нежелательные явления вносят в список и таблицу по классу системы органов, предпочтительному термину и лечению. Основные показатели состояния организма и результаты клинических лабораторных анализов вносят в список и обобщают в зависимости от лечения. Любые существенные данные объективного обследования и клинические лабораторные результаты вносят в список. Исследователь оценивает записи ЭКГ и вносит в список отклонения, если таковые присутствуют.

Фармакокинетические анализы: сводную статистику заносят в таблицы для фармакокинетических параметров лирилумаба, распределяя по дозе и дню/неделе исследования. Для описания зависимости от дозы антитела к KTR, диаграммы разброса данных C_{\max} и AUC(TAU) в зависимости от дозы предусмотрены для каждого дня измерения. Пропорциональность дозы лирилумаба, вводимого совместно с ниволумабом, оценивают на основании модели статистической мощности исследования. Концентрацию по окончании инфузии ниволумаба и остаточную (C_{\min}) концентрацию заносят в таблицу с помощью сводной статистики. Указанные данные также объединяют с другими базами данных для PK анализа популяции, которые являются частью отдельного отчета.

Анализ биомаркеров: фармакодинамический эффект лирилумаба на инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL) и экспрессию опухолевых маркеров, включая в себя PD-L1 и HLA I класса, оценивают по сводной статистике и изучают графически для исследования паттернов изменения, например, в зависимости от воздействия лекарственного средства, для субъектов с меланомой в расширенной когорте. Кроме того, корреляцию изменений TIL и экспрессии опухолевых маркеров с измерениями маркеров периферической крови исследуют графически или с помощью соответствующих статистических способов на основании доступности данных в отношении ассоциаций между оценками.

Диагностические анализы биомаркера: фармакодинамический эффект лирилумаба на занятость KTR и комбинацию ниволумаба с лирилумабом на маркеры в периферической крови и белках сыворотки оценивают по сводной статистике и изучают графически для исследования паттернов изменения во времени и изучения того, как паттерны отличаются между уровнями доз и воздействием. Если имеет место

существенный показатель в паттерне изменений во времени, дополнительный анализ (например, с помощью линейной смешанной модели) проводят для определения характеристик взаимодействия. Фармакодинамические эффекты на опухолевые маркеры в когортах, отличных от меланомы, оценивают аналогичным образом в зависимости от доступности данных. Ассоциации между показателями биомаркером из периферической крови или биоптата опухоли и клиническими результатами также изучают графически и дополнительно оценивают при необходимости с помощью таких способов, как без ограничения логистическая регрессия, и определяют характеристики с помощью соответствующего статистического анализа.

Другие анализы: предусмотрено внесение в список всех доступных данных относительно иммуногенности. Кроме того, внесение в список данных относительно иммуногенности от указанных субъектов по меньшей мере с одним положительным антителом к лекарственному средству (ADA) в любой момент времени предусмотрен обработкой каждого анализа. Предусмотрен коэффициент частоты субъектов по меньшей мере с одной положительной оценкой ADA и коэффициент частоты субъектов, которые развивают ADA после отрицательной исходной оценки. Для исследования потенциального взаимодействия между иммуногенностью и безопасностью, коэффициент частоты и тип представляющих особый интерес АЕ исследуют в отношении общего статуса иммуногенности. Изучают ассоциации между остаточными концентрациями лирилумаба (или ниволумаба) и соответствующими оценками ADA.

Промежуточные анализы: данные, полученные из указанного исследования, нуждаются в своевременных решениях о корректировании относительно процедур в последующих частях исследования. Следовательно, данные просматривают до окончательного блокирования базы данных исследования. Дополнительные промежуточные анализы также проводят для административных целей или публикаций. Анализы состоят только из внесения в список, краткого изложения и графиков имеющихся данных. Не делают никаких формальных выводов, требующих какого-либо корректирования по отношению к статистически значимому уровню. Анализы эффективности, основанные на промежуточных данных, используют поддающийся оценке ответ или все получившие лечение популяции в зависимости от цели анализа.

Краткое изложение последовательностей

SEQ ID NO:	Последовательность
1	<p>Аминокислотная последовательность тяжелой цепи Моноклональное антитело к KIR (IPH2102 / лирилумаб) (CDR подчеркнуты)</p> <p> QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGTFS <u>FY</u>AISWVRQA PGQGLEWMGG <u>FI</u>IFGAANY AQKFQGRVTI TADESTSTAY MELSSLRSDD TAVYYCAR<u>IP</u> <u>SG</u>SYYYDYDM <u>DV</u>WGQTTVT VSSASTKGPS VFPLAPCSRS TSESTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TKTYTCNVDH KPSNTKVDKR VESKYGPCP <u>PC</u>PAPEFLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS QEDPEVQFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQFN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKG LPSSIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSQEE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFLY SRLTVDKSRW QEGNVFSCSV MHEALHNHYT QKLSLSLGLK </p>
2	<p>Аминокислотная последовательность легкой цепи Моноклональное антитело к KIR (IPH2102 / лирилумаб) (CDR подчеркнуты)</p> <p> EIVLTQSPVT LSLSPGERAT LSCRASQSVS <u>SY</u>LAWYQKQP GOAPRLLIY<u>D</u> <u>AS</u>NRATGIPA RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYC<u>QQ</u> <u>RS</u>NWMYTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSLSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC </p>
3	<p>Аминокислотная последовательность вариательной области тяжелой цепи (VH) Моноклональное антитело к KIR (IPH2102 / лирилумаб) - (SEQ ID NO:17 из международной патентной публикации WO 2006/003179)</p> <p> QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSFYAISWVRQAPGQGLEWMGGFIPIF GAANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSDDTAVYYCARIPSGSYYYDYDM VWGQTTVTVSS </p>
4	<p>Нуклеотидная последовательность вариательной области тяжелой цепи (VH) Моноклональное антитело к KIR (IPH2102 / лирилумаб) - (SEQ ID NO:18 из международной патентной публикации WO 2006/003179)</p> <p> caggtccagc tgggtcagtc tggggctgag gtaagaagc ctgggtcctc ggtgaagtc tcctgcaagg cttctggagg caccttcagt ttctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg ttcattcccta tctttggtgc agcaaacac gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac atggaactga gcagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaatccct agtgggagct actactacga ctacgatatg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc gtctcctca </p>
5	<p>Аминокислотная последовательность вариательной области легкой цепи (VL) Моноклональное антитело к KIR (IPH2102 / лирилумаб) - (SEQ ID NO:15 из международной патентной публикации WO 2006/003179)</p> <p> EIVLTQSPVTLISLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQKPGQAPRLLIYD ASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWMYTFGQ GTKLEIKRT </p>
6	<p>Нуклеотидная последовательность вариательной области легкой цепи (VL) Моноклональное антитело к KIR (IPH2102 / лирилумаб) - (SEQ ID NO:16 из международной патентной публикации WO 2006/003179)</p>

	<p>gaaattgtgt tgacacagtc tccagtcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc ctctcctgca gggccagtcagtggttagc agctacttag cctggtacca acagaaacct gccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc aggttcagtg gcagtggtc tgggacagac ttcacttca ccatcagcag cctagagcct gaagatttg cagttatta ttgtcagcag cgtagcaact ggatgtacac ttttgccag gggaccaagc tggagatcaa acgaact</p>
7	<p>Аминокислотная последовательность CDR1 тяжелой цепи Моноклональное антитело к KIR (IPH2102 / лирилумаб) – (из фигуры 15 в международной патентной публикации WO 2006/003179) (соответствует аминокислотным остаткам 31-35 SEQ ID NO:1)</p> <p>FYAIS</p>
8	<p>Аминокислотная последовательность CDR2 тяжелой цепи Моноклональное антитело к KIR (IPH2102 / лирилумаб) - (из фигуры 15 из международной патентной публикации WO 2006/003179) (соответствует аминокислотным остаткам 50-65 SEQ ID NO:1)</p> <p>GFIFIFGAANYAQKFQ</p>
9	<p>Аминокислотная последовательность CDR3 тяжелой цепи Моноклональное антитело к KIR (IPH2102 / лирилумаб) - (из фигуры 15 из международной патентной публикации WO 2006/003179) (соответствует аминокислотным остаткам 99-112 SEQ ID NO:1)</p> <p>IPSGSYYYDYDMDV</p>
10	<p>Аминокислотная последовательность CDR1 легкой цепи Моноклональное антитело к KIR (IPH2102 / лирилумаб) - (из фигуры 15 из международной патентной публикации WO 2006/003179) (соответствует аминокислотным остаткам 24-34 SEQ ID NO:3)</p> <p>RASQSVSSYLA</p>
11	<p>Аминокислотная последовательность CDR2 легкой цепи Моноклональное антитело к KIR (IPH2102 / лирилумаб) - (из фигуры 15 из международной патентной публикации WO 2006/003179) (соответствует аминокислотным остаткам 50-56 SEQ ID NO:3)</p> <p>DASNRAT</p>
12	<p>Аминокислотная последовательность CDR3 легкой цепи Моноклональное антитело к KIR (IPH2102 / лирилумаб) - (из фигуры 15 из международной патентной публикации WO 2006/003179) (соответствует аминокислотным остаткам 89-97 SEQ ID NO:3)</p> <p>QQRSNWMYT</p>
13	<p>Внеклеточный домен KIR2DL1 (SEQ ID NO:23 из международной патентной публикации WO 2006/003179)</p> <p>HEGVHRKPSLLAHPGXLVKSEETVILQCWSDVMFEHLLHREGMFNDT LRLIGEHHDGVSKANFSISRMTQDLAGTYRCYGSVTHSPYQVSAPSDPLD IVIIIGLYEKPSLSAQXGPTVLAGENVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHER RLPAGPKVNGTFQADFPLGPATHGGTYRCFGSFHDSPEYWSKSSDPLLV</p>

	VTGNPSNSWSPTEPSSKTGNPRHLH
14	<p>Внеклеточный домен KIR2DL2 (SEQ ID NO:24 из международной патентной публикации WO 2006/003179)</p> <p>HEGVHRKPSLLAHPGRLVKSEETVILQCWSDVRFEFLLHREGKFKDTLH LIGEHHDGVSKANFSIGPMMQDLAGTYRCYGSVTHSPYQLSAPSDPLDIV ITGLYEKPSLSAQPGPTVLAGEVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHECRF SAGPKVNGTFQADFPLGPATHGGTYRCFGSFRDSPYEWSNSSDPLLVSVI GNPSNSWSPTEPSSKTGNPRHLH</p>
15	<p>Внеклеточный домен KIR2DL3 (SEQ ID NO:25 из международной патентной публикации WO 2006/003179)</p> <p>HEGVHRKPSLLAHPGPLVKSEETVILQCWSDVRFQHFLLHREGKFKDTLH LIGEHHDGVSKANFSIGPMMQDLAGTYRCYGSVTHSPYQLSAPSDPLDIV ITGLYEKPSLSAQPGPTVLAGEVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHERRF SAGPKVNGTFQADFPLGPATHGGTYRCFGSFRDSPYEWSNSSDPLLVSVT GNPSNSWSPTEPSSSETGNPRHLH</p>
16	<p>Внеклеточный домен KIR2DS4 (SEQ ID NO:38 из международной патентной публикации WO 2006/003179)</p> <p>QEGVHRKPSFLALPGHLVKSEETVILQCWSDVMFEHLLHREGKFNNTLH LIGEHHDGVSKANFSIGPMMPVLAGTYRCYGSVPHSPYQLSAPSDPLDMV</p>
17	<p>Аминокислотная последовательность тяжелой цепи Моноклональное антитело к PD-1 (BMS936558; 5C4 в международной патентной публикации WO 2006/121168) (вариабельная область подчеркнута; константная область выделена жирным шрифтом)</p> <p><u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGL</u> <u>EWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLR AEDT</u> <u>AVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA</u> LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTKTYTCNV D HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV FCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK</p>
18	<p>Аминокислотная последовательность легкой цепи Моноклональное антитело к PD-1 (BMS936558; 5C4 в международной патентной публикации WO 2006/121168) (вариабельная область подчеркнута; константная область выделена жирным шрифтом)</p> <p><u>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLI</u> <u>YDASNRA TGI PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQOSSNWPR</u> <u>TFGQGTKVEIK</u>RTVAAPS FIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREA</p>

	KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
19	Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) Моноклональное антитело к PD-1 (BMS936558; 5C4 в международной патентной публикации WO 2006/121168) (SEQ ID NO:4 из международной патентной публикации WO 2006/121168) QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAV IWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATND DYWGQGLTVTVSS
20	Нуклеотидная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) Моноклональное антитело к PD-1 (BMS936558; 5C4 в международной патентной публикации WO 2006/121168) (SEQ ID NO:60 из международной патентной публикации WO 2006/121168) cag gtg cag ctg gtag gag tct ggg gga ggc gtg gtc cag cct ggg agg tcc ctg aga ctc gac tgt aaa gcg tct gga atc acc ttc agt aac tct ggc atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggg ctg gag tgg gtg gca gtt att tgg tat gat gga agt aaa aga tac tat gca gac tcc gtg aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acg ctg ttt ctg caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtg tat tac tgt gcg aca aac gac gac tac tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc gtc tcc tca
21	Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) Моноклональное антитело к PD-1 (BMS936558; 5C4 в международной патентной публикации WO 2006/121168) (SEQ ID NO:11 из международной патентной публикации WO 2006/121168) EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD ASNRRATGIPARFSGSGSGTDFLTLSISLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQ GTKVEIK
22	Нуклеотидная последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) Моноклональное антитело к PD-1 (BMS936558; 5C4 в международной патентной публикации WO 2006/121168) (SEQ ID NO:67 из международной патентной публикации WO 2006/121168) gaa att gtg ttg aca cag tct cca gcc acc ctg tct ttg tct cca ggg gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt agt agt tac tta gcc tgg tac caa cag aaa cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc atc tat gat gca tcc aac agg gcc act ggc atc cca gcc agg ttc agt ggc agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc agc cta gag cct gaa gat ttt gca gtt tat tac tgt cag cag agt agc aac tgg cct cgg acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc aaa
23	Аминокислотная последовательность CDR1 тяжелой цепи Моноклональное антитело к PD-1 (BMS936558; 5C4 в международной патентной публикации WO 2006/121168)

	(SEQ ID NO:18 из международной патентной публикации WO 2006/121168) NSGMH
24	Аминокислотная последовательность CDR2 тяжелой цепи Моноклональное антитело к PD-1 (BMS936558; 5C4 в международной патентной публикации WO 2006/121168) (SEQ ID NO:25 из международной патентной публикации WO 2006/121168) VIWYDGSKRYYADSVKG
25	Аминокислотная последовательность CDR3 тяжелой цепи Моноклональное антитело к PD-1 (BMS936558; 5C4 в международной патентной публикации WO 2006/121168) (SEQ ID NO:32 из международной патентной публикации WO 2006/121168) NDDY
26	Аминокислотная последовательность CDR1 легкой цепи Моноклональное антитело к PD-1 (BMS936558; 5C4 в международной патентной публикации WO 2006/121168) (SEQ ID NO:39 из международной патентной публикации WO 2006/121168) RASQSVSSYLA
27	Аминокислотная последовательность CDR2 легкой цепи Моноклональное антитело к PD-1 (BMS936558; 5C4 в международной патентной публикации WO 2006/121168) (SEQ ID NO:46 из международной патентной публикации WO 2006/121168) DASNRAT
28	Аминокислотная последовательность CDR3 легкой цепи Моноклональное антитело к PD-1 (BMS936558; 5C4 в международной патентной публикации WO 2006/121168) (SEQ ID NO:53 из международной патентной публикации WO 2006/121168) QQSSNWPRT
29	Полная последовательность PD-1 (Регистрационный номер GenBank: U64863) agtttccctf ccgctcacct ccgctgagc agtgagaag cggcactct ggtgggctg ctccagcagc cagatccca caggcgcct ggccagtcgt ctggcggtg ctacaactgg gctggcgcc aggatggtc ttagctccc cagacaggcc ctggaacccc cccacttct tcccagcct gctctggtg accgaagggg acaacgccac cttcaactgc agtttcca acacatcgga gagctctgtg ctaactggt acccatgag ccccagcaac cagacggaca agctggcgc ctccccgag gaccgcagcc agcccggcca ggactgccgc ttccgtgta cacaactgcc caacggcgt gactccaca tgagctggt caggcccgg cgcaatgaca gcggcaccta ctctgtggg gcatctccc tggccccaa ggccagatc aaagagagcc tgcgggcaga gctcagggtg acagagagaa ggcagaagt gccacagcc caccccagcc cctcaaccag gccagcggc cagtccaaa cctgtgtgt tggtgtgtg ggccgctgc tggcagcct ggtgtgta gctgggtcc tggcgtcat ctgtcccgg gccgcagag ggacaatagg agccagcgc accggcagc cctgaagga ggaccctca gccgtgctg tttctctgt ggactatgg gagctgatt tccagtggc agagaagacc ccggagccc ccgtgccctg tgcctctgag cagacggagt atgccacat tcttctct agcggatgg gcactcatc ccccggcgc aggggctcag ccgacggcc tggagtgcc cagcactga ggctgagga tggactgct tctggccc tctgaccgc tctctggcc accagtgtc tgcagacct ccacatgag cccgggtcag cgcatttct caggagaagc aggcagggtg caggccattg caggccgtcc aggggctgag ctgctgggg ggaccggg ctccagcctg cacctgcacc aggcacagcc ccaccacagg actcatgtct caatgccac agtgagcca ggcagcaggt gtcaccgtcc cctacagga gggccagatg cagtactgc ttcaggtct gccagcacag agctgctgc gtcagctcc ctgaatctt gctgctgctg ctgctgctg tgctgctg tccggcccgg ggctgaaggc gccgtggcc tgcctgacgc cccggagcct cctgcctgaa ctgggggct ggttgagat gccctggag cagccaagt gccctggca gtggcatccc gaaacgcct ggacgcagg cccaagactg gccacaggag tggaggtac atgggctgg ggactccca ggagtatct gctccctga gccctagaga agttcaggg aaggtcaga gagctctgg ctgtgtggg caggcgagga aaccctccc accttacac atgccagcc agcacctcag gccctgtg ggcagggaa gctgaggcag taagcggca ggcagagctg gaggccttc aggcagcca gcaactggc ctctcccgc cgattccac cccagccct cacaccactc gggagagga cctctacgg tcccaggtc agggggcag ggctggggt gactcagcc cctccagct gtggccact ggtgttggg agggcagaag tgcaggcacc tagggcccc catgtgcca cctgggagc tctcttga accattct gaaattatt aaaggggtg gccggctcc caccagggcc tgggtggaa ggtacaggg tccccggg gctagtacc cccgctggc ctaccactc ctecatca cacactgac cccactct gggcagggc caccagcag caggcgcca gcaggacct gagtggctg gacaaggat cccctccc tgtgttcta ttattata attataatta aatagagag catgct

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение антитела к KIR для лечения злокачественной опухоли экспрессирующей PD-L1 у пациента в комбинации с антителом к PD-1, где антитело к KIR блокирует ингибирующую KIR и антитело к PD-1 блокирует PD-1, где

(a) антитело к KIR содержит переменные области тяжелой цепи CDR1, CDR2 и CDR3, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 и SEQ ID NO: 9 соответственно; переменные области легкой цепи CDR1, CDR2 и CDR3, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12 соответственно; и

(b) антитело к PD-1 содержит переменные области тяжелой цепи CDR1, CDR2, CDR3, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24 и SEQ ID NO: 25 соответственно; переменные области легкой цепи CDR1, CDR2 и CDR3, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 28 соответственно.

2. Применение по п.1, где злокачественная опухоль представляет собой солидную опухоль.

3. Применение по п.2, где солидная опухоль представляет собой рефрактерную солидную опухоль на поздней стадии.

4. Применение по любому из пп.1-3, где злокачественная опухоль представляет собой (a) опухоль головы или шеи или (b) колоректальный рак.

5. Применение по любому из пп.1-3, где антитело к KIR потенцирует цитотоксичность NK-клеток, содержащих один или несколько KIR, связанных указанным антителом.

6. Применение по любому из пп.1-3, где антитело к KIR является перекрестно-реагирующим с многочисленными ингибирующими KIR.

7. Применение по п.6, где перекрестно-реагирующее антитело к KIR связывается с каждым из KIR2D2DL1, KIR2DL2 и KIR2DL3.

8. Применение по любому из пп.1-3, где

(a) антитело к KIR содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3, и переменную область легкой цепи, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5; и/или

(b) антитело к KIR содержит тяжелую цепь, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2.

9. Применение по любому из пп.1-3, где

(a) антитело к PD-1 содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 19, и переменную область легкой цепи, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 21; и/или

(b) антитело к PD-1 содержит тяжелую цепь, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 17, и легкую цепь, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 18.

10. Способ лечения злокачественной опухоли экспрессирующей PD-L1 у пациента-человека, включающий введение пациенту эффективного количества антитела к KIR и антитела к PD-1, где антитело к KIR и антитело к PD-1 вводят одновременно в одном составе, и где антитело к KIR блокирует ингибирующую KIR и антитело к PD-1 блокирует PD-1, причем

(a) антитело к KIR содержит переменные области тяжелой цепи CDR1, CDR2 и CDR3, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 и SEQ ID NO: 9 соответственно; переменные области легкой цепи CDR1, CDR2 и CDR3, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12 соответственно; и

(b) антитело к PD-1 содержит переменные области тяжелой цепи CDR1, CDR2 и CDR3, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24 и SEQ ID NO: 25 соответственно; переменные области легкой цепи CDR1, CDR2 и CDR3, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 28 соответственно.

11. Способ лечения злокачественной опухоли экспрессирующей PD-L1 у пациента-человека, включающий введение пациенту эффективного количества антитела к KIR и антитела к PD-1, где антитело к KIR блокирует ингибирующую KIR и антитело к PD-1 блокирует PD-1, и где

(a) антитело к KIR и антитело к PD-1 вводят одновременно в отдельных составах;

(b) антитело к KIR и антитело к PD-1 вводят последовательно;

(c) антитело к PD-1 вводят вначале с последующим введением антитела к KIR; или

(d) антитело к KIR вводят вначале с последующим введением антитела к PD-1, и причем

(e) антитело к KIR содержит переменные области тяжелой цепи CDR1, CDR2 и CDR3, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 и SEQ ID NO: 9 соответственно; переменные области легкой цепи CDR1, CDR2 и CDR3, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12 соответственно; и

(f) антитело к PD-1 содержит переменные области тяжелой цепи CDR1, CDR2 и CDR3, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24 и SEQ ID NO: 25 соответственно; переменные области легкой цепи CDR1, CDR2 и CDR3, имеющие последовательности, представленные

ные в SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 28 соответственно.

12. Способ по п.10 или 11, где злокачественная опухоль представляет собой (а) опухоль головы или шеи или (b) колоректальный рак.

13. Способ по п.10 или 11, где антитело к KIR потенцирует цитотоксичность NK-клеток, содержащих один или несколько KIR, связанных указанным антителом.

14. Способ по п.10 или 11, где антитело к KIR является перекрестно-реагирующим с многочисленными ингибирующими KIR.

15. Способ по п.14, где перекрестно-реагирующее антитело к KIR связывается с каждым из KIR2D2DL1, KIR2DL2 и KIR2DL3.

16. Способ по п.10 или 11, где

(а) антитело к KIR содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3, и вариабельную область легкой цепи, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5; и/или

(b) антитело к KIR содержит тяжелую цепь, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2.

17. Способ по п.10 или 11, где

(а) антитело к PD-1 содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 19, и вариабельную область легкой цепи, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 21; и/или

(b) антитело к PD-1 содержит тяжелую цепь, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 17, и легкую цепь, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 18.

18. Способ по п.10 или 11, где лечение предусматривает по меньшей мере один цикл введения, где цикл представляет собой период из восьми недель, причем для каждого из по меньшей мере одного цикла две дозы антитела к KIR вводят в дозе, составляющей 0,1, 0,3, 1, 3, 6, 10 мг/кг, и четыре дозы антитела к PD-1 вводят в дозе, составляющей 3 мг/кг.

19. Способ по п.10 или 11, где антитело к KIR вводят в дозе, составляющей 3 мг/кг, и антитело к PD-1, вводят в дозе, составляющей 0,1, 0,3, 1, 3, 6, 10 мг/кг.

20. Способ по п.10 или 11, где антитела вводят в состав для внутривенного введения.

21. Способ по п.10 или 11, где лечение состоит из вплоть до 12 циклов.

22. Способ по п.10 или 11, где

(а) антитело к PD-1 вводят в 1, 15, 29 и 43 день каждого цикла;

(b) антитело к KIR вводят в 1 и 29 день каждого цикла и/или

(с) антитело к PD-1 вводят перед введением антитела к KIR в 1 и 29 день.

23. Способ по п.22, где антитело к PD-1 вводят перед введением антитела к KIR в 1 и 29 день и антитело к KIR вводят не позже чем через 30 мин после введения антитела к PD-1.

24. Способ по п.10 или 11, где лечение производит по меньшей мере один терапевтический эффект, выбранный из снижения размера опухоли, снижения числа метастатических поражений с течением времени, полного ответа, частичного ответа и стабилизации заболевания.

25. Набор для лечения злокачественной опухоли экспрессирующей PD-L1 у пациента-человека, содержащий:

(а) дозу антитела к KIR, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 7, 8 и 9 соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 10, 11 и 12 соответственно;

(b) дозу антитела к PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 23, 24 и 25 соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 26, 27 и 28 соответственно; и

(с) инструкции по применению антитела к KIR и антитела к PD-1 в способе по любому из пп.10-24.

26. Набор по п.25, в котором

(а) антитело к KIR содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3, и вариабельную область легкой цепи, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5; и/или

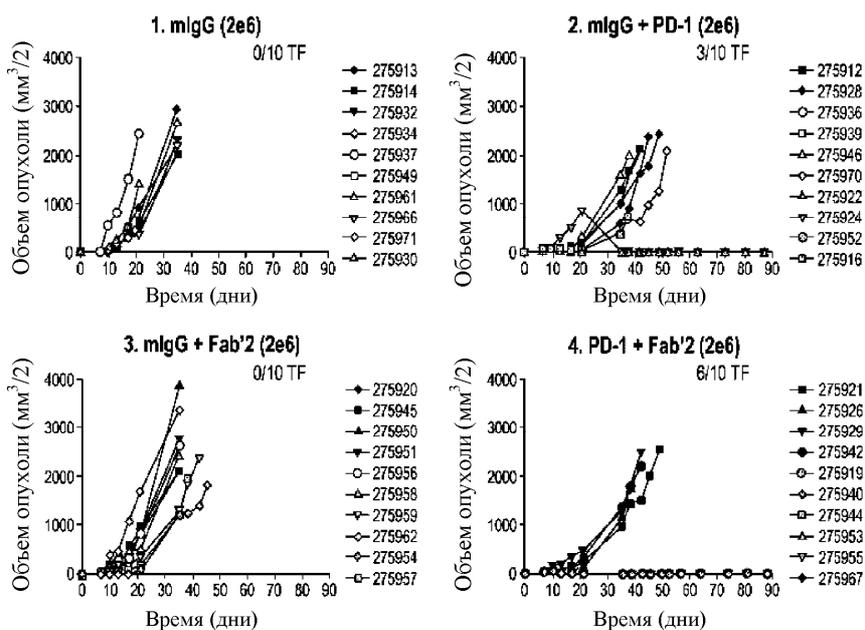
(b) антитело к KIR содержит тяжелую цепь, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2.

27. Набор по п.25, в котором

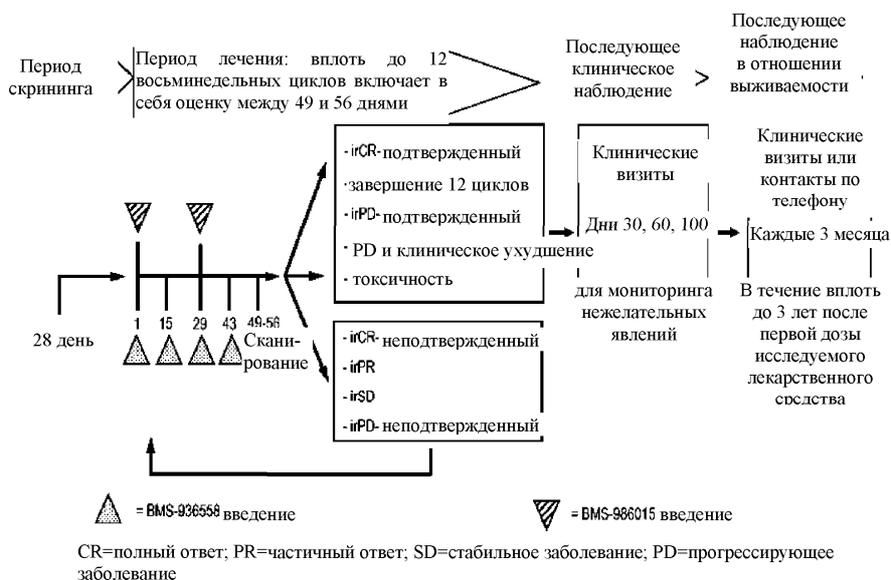
(а) антитело к PD-1 содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 19, и вариабельную область легкой цепи, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 21; и/или

(b) антитело к PD-1 содержит тяжелую цепь, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 17, и легкую цепь, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 18.

28. Набор по пп.25, 26 или 27, где злокачественная опухоль представляет собой (а) опухоль головы или шеи или (b) колоректальный рак.



Фиг. 1



Фиг. 2