



## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента  
2022.08.12

(21) Номер заявки  
201892605

(22) Дата подачи заявки  
2017.05.12

(51) Int. Cl. C07K 16/28 (2006.01)  
A61N 5/00 (2006.01)  
A61N 5/10 (2006.01)

---

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ИЛИ ИНГИБИРОВАНИЯ РОСТА ПЛОСКОКЛЕТОЧНОЙ  
КАРЦИНОМЫ КОЖИ С ПОМОЩЬЮ АНТИТЕЛА ПРОТИВ PD-1

---

(31) 62/335,743; 62/340,142; 62/348,546;  
62/350,305; 62/364,920; 62/374,020;  
62/451,274

(32) 2016.05.13; 2016.05.23; 2016.06.10;  
2016.06.15; 2016.07.21; 2016.08.12;  
2017.01.27

(33) US

(43) 2019.04.30

(86) PCT/US2017/032408

(87) WO 2017/197263 2017.11.16

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
РИДЖЕНЕРОН  
ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:  
Фьюри Мэттью Г., Лови Израэль (US)

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

(56) WO-A1-2015112800  
Anonymous: "NCT02760498: A Phase 2 Study of REGN2810, a Fully Human Monoclonal Antibody to Programmed Death-1 (PD-1), in Patients With Advanced Cutaneous Squamous Cell Carcinoma", ClinicalTrials.gov archive, 2 May 2016 (2016-05-02), pages 1-3, XP055384616, Retrieved from the Internet: URL:https://clinicaltrials.gov/archive/NCT02760498/2016\_05\_02 [retrieved on 2017-06-23], the whole document

WO-A1-2015193352  
KATHLEEN M. MAHONEY ET AL.:  
"The Next Immune-Checkpoint Inhibitors: PD-1/  
PD-L1 Blockade in Melanoma", CLINICAL  
THERAPEUTICS., vol. 37, no. 4, 1  
April 2015 (2015-04-01), pages 764-782,  
XP055285031, US, ISSN: 0149-2918, DOI:  
10.1016/j.clinthera.2015.02.018, the whole document,  
paragraph, page 774, right-hand column, last  
paragraph; table v

N/a: "ESMO 2014: Results of a  
Phase III Randomised Study of Nivolumab  
in Patients with Advanced Melanoma After  
Prior Anti-CTLA4 Therapy", European Society  
for Medical Oncology, 29 September 2014  
(2014-09-29), XP055318378, Retrieved from  
the Internet: URL:http://www.esmo.org/Conferences/  
Past-Conferences/ESMO-2014-Congress/News-  
Articles/Results-of-a-Phase-III-Randomised-Study-  
of-Nivolumab-in-Patients-with-Advanced-  
Melanoma-After-Prior-Anti-CTLA4-Therapy  
[retrieved on 2016-11-10], the whole document

Suzanne L. Topalian ET AL.: "Safety,  
activity, and immune correlates of anti-  
PD-1 antibody in cancer", The New  
England journal of medicine, 28 June 2012  
(2012-06-28), pages 2443-2454, XP055098235,  
United States DOI: 10.1056/NEJMoa1200690,  
Retrieved from the Internet: URL:http://  
search.proquest.com/docview/1022620071, page  
2444, left-hand column, paragraph 2 - right-hand  
column, last paragraph; figure 1; table 2

(57) Изобретение относится к способам лечения, снижения тяжести или ингибирования роста злокачественной опухоли (например, рака кожи). Способы по настоящему документу включают введение пациенту терапевтически эффективного количества антагониста белка программируемой клеточной гибели 1 (PD-1) (например, антитела против PD-1). В определенных вариантах осуществления рак кожи представляет собой плоскоклеточную карциному кожи или базальноклеточную карциному.

Заявка на настоящий патент подана 12 мая 2017 г. как международная патентная заявка РСТ, и по ней испрашивается приоритет предварительных заявок США № 62/335743, поданной 13 мая 2016 г.; 62/340142, поданной 23 мая 2016 г.; 62/348546, поданной 10 июня 2016 г.; 62/350305, поданной 15 июня 2016 г.; 62/364920, поданной 21 июля 2016 г.; 62/374020, поданной 12 августа 2016 г.; и 62/451274, поданной 27 января 2017 г., описание каждой включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

#### **Список последовательностей**

Изобретение содержит список последовательностей в электронном формате в виде файла txt с названием "Списки последовательностей". Содержание файла txt "Списки последовательностей" включено в настоящее описание в качестве ссылки.

#### **Область техники, к которой относится изобретение**

Настоящее изобретение относится к способам лечения рака кожи, включающим введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела, которое специфически связывается с рецептором белка запрограммированной смерти 1 (PD-1).

#### **Уровень техники**

Рак кожи является наиболее распространенным типом злокачественного новообразования в Соединенных Штатах (Guy et al. 2015, Am. J. Prev. Med. 48:183-7). По оценкам 5,4 млн случаев рака кожи, включая меланому, в том числе базальноклеточной карциномы и плоскоклеточной карциномы, диагностировали в Соединенных Штатах в 2012 году (Rogers et al. 2015, JAMA Dermatol., опубликовано онлайн 30 апреля 2015 г.). Плоскоклеточная карцинома кожи (CSCC) представляет собой второе наиболее распространенное злокачественное новообразование в США, после базальноклеточной карциномы (BCC) (Karia et al. 2013, J. Am. Acad. Dermatol. 68:957-966). Факторы риска CSCC включают воздействие ультрафиолета, пожилой возраст и иммуносупрессию (Alam et al. 2001, New Engl. J. Med. 344 (975-983); Madan 2010, Lancet 375: 673-685). Несмотря на то что подавляющее большинство индивидуумов с диагнозом CSCC или BCC имеют очень благоприятный прогноз, CSCC больше предрасположена к агрессивным рецидивам, чем BCC. У индивидуумов с диагностированной CSCC, в отличие от индивидуумов, у которых диагностировали BCC, повышена смертность по сравнению с контролями в том же возрасте (Rees et al. 2015, Int. J. Cancer 137: 878-84).

Хирургическая резекция является основным элементом клинического лечения CSCC. Первичная цель состоит в полной резекции злокачественной опухоли, а приемлемый косметический результат является второй целью. Факторы, связанные с плохим прогнозом при CSCC, включают размер опухоли >2 см, глубину опухоли >2 мм, перинеуральную инвазию, иммуносупрессию хозяина и рецидивирующие повреждения. Для небольшой процентной доли пациентов, у которых развивается нерезектабельное местно рецидивирующее или метастатическое заболевание, возможности лечения ограничены. Пациентам можно проводить послеоперационную лучевую терапию. Химиотерапия не является оптимальным вариантом для многих пациентов из-за проблем с безопасностью и переносимостью.

Наиболее распространенным клиническим подтипом является узловая BCC. Менее распространенными клиническими подтипами являются поверхностная, склерозирующая (фиброзная) и фиброэпителиальная BCC. Большинство пациентов излечивается хирургическим вмешательством, но у небольшого процента пациентов развивается нерезектабельное местно распространенное или метастатическое заболевание. Практически все BCC отличаются нарушенной передачей сигналов в сигнальном пути hedgehog, наиболее часто из-за случайной мутации с потерей функции в гене, кодирующем гомолог белка PATCHED (PTCH), супрессор опухоли. Мутация PTCH ведет к потере опосредованного PATCHED ингибирования сопряженного с G-белком рецептора Smoothed (SMO), тем самым усиливая нисходящую сигнализацию, что ведет к неконтролируемой клеточной пролиферации (Sekulic et al. 2016, Cell 164:831). Понимание онкогенной роли SMO в BCC привело к разработке висмодегиба и сонидегиба, перорально доступных ингибиторов SMO, в целом, обозначаемых как ингибиторы Hedgehog (НИИ). В дополнение к нежелательным побочным эффектам НИИ обнаружено, что у пациентов, которые прогрессируют на одном НИИ (висмодегибе), последующее лечение другим НИИ (сонидегибом) не ведет к ингибированию опухоли (Danial et al. 2016, Clin. Cancer Res. 22: 1325-29). Не существует одобренного средства против BCC для пациентов, у которых отмечалось прогрессирование заболевания при терапии НИИ или которые не толерантны к предшествующей НИИ терапии.

Следовательно, существует необходимость в безопасной и эффективной BCC системной терапии рака кожи, в том числе CSCC и BCC.

#### **Раскрытие сущности изобретения**

В соответствии с определенными вариантами осуществления, настоящее изобретение относится к способам лечения или улучшения по меньшей мере одного симптома или показания или ингибирования роста злокачественной опухоли у пациента. Способы в соответствии с этим аспектом изобретения включают введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с белком 1 программируемой клеточной гибели (PD-1), необязательно, в комбинации с лучевой терапией.

В соответствии с определенными вариантами осуществления, настоящее изобретение относится к

способам лечения злокачественной опухоли, в том числе солидной опухоли, способы включают отбор пациента со злокачественной опухолью и введение одной или нескольких доз антитела против PD-1 в комбинации с одной или несколькими дозами лучевой терапии. В определенных вариантах осуществления введение комбинации ведет к усиленному терапевтическому эффекту или противоопухолевому эффекту по сравнению с введением отдельно антитела или проведением облучения.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения предусмотрены способы лечения или улучшения по меньшей мере одного симптома или показания или ингибирования роста злокачественной опухоли у пациента. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения предусмотрены способы задержки роста опухоли или профилактики рецидива опухоли. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения предусмотрены способы повышения общей выживаемости или выживаемости без прогрессирования у пациента со злокачественной опухолью. Способы, в соответствии с этим аспектом изобретения, включают последовательное введение одной или нескольких доз терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с PD-1. В одном из вариантов осуществления введение антитела против PD-1 проводят в комбинации с лучевой терапией.

В определенных вариантах осуществления злокачественная опухоль или опухоль представляет собой солидную опухоль или рак. В определенных вариантах осуществления солидная опухоль выбрана из группы, состоящей из рака толстой кишки, рака яичников, рака предстательной железы, рака молочной железы, рака головного мозга, рака шейки матки, рака мочевого пузыря, рака ануса, рака матки, рака ободочной кишки, рака печени, рака поджелудочной железы, рака легких, рака эндометрия, рака кости, рака яичек, рака кожи, рака почки, рака желудка, рака пищевода, рака головы и шеи, рака слюнной железы и миеломы.

В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 вводят в качестве лечения "первой линии" пациенту со злокачественной опухолью, где пациент не получал предшествующего системного лечения злокачественной опухоли. В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 вводят в качестве лечения "второй линии" пациенту со злокачественной опухолью (например, метастатической злокачественной опухолью), где пациент предварительно получал лечение с использованием "стандартной" терапии, включая в качестве неограничивающих примеров химиотерапию, хирургическое вмешательство и облучение.

Один из вариантов осуществления изобретения относится к антителу против PD-1 для использования при лечении рака кожи. В определенных вариантах осуществления рак кожи представляет собой не меланомную злокачественную опухоль кожи, включая в качестве неограничивающих примеров, плоскоклеточную карциному кожи и базальноклеточную карциному. Антитело против PD-1 можно вводить, как раскрыто в настоящем описании, пациенту с метастатической или местно распространенной плоскоклеточной карциномой кожи. В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 вводят, как раскрыто в настоящем описании, пациенту с распространенной базальноклеточной карциномой, где пациент не толерантен к ингибитору пути Hedgehog (например, висмодегиб, сонедегиб) или он получал лечение ингибитором пути Hedgehog и у него отмечается прогрессирующее заболевание.

В определенных вариантах осуществления каждая доза антитела против PD-1 содержит 0,1-20 мг/кг массы тела пациента. В определенных вариантах осуществления каждая доза антитела против PD-1 содержит 0,3, 1, 3, 5 или 10 мг/кг массы тела пациента. В определенных вариантах осуществления каждая доза антитела против PD-1 содержит 20-600 мг. В одном из вариантов осуществления каждая доза антитела против PD-1 содержит приблизительно 200 мг. В одном из вариантов осуществления каждая доза антитела против PD-1 содержит приблизительно 250 мг. В одном из вариантов осуществления каждая доза антитела против PD-1 содержит приблизительно 350 мг.

В определенных вариантах осуществления лучевую терапию проводят одной или несколькими дозами. В определенных вариантах осуществления каждая доза лучевой терапии содержит 2-100 Грэй (Гр). В определенных вариантах осуществления лучевая терапия представляет собой гипофракционированную лучевую терапию. В определенных вариантах осуществления лучевая терапия предусматривает 2-12 фракций.

В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение терапевтически эффективного количества антитела против PD-1 перед, параллельно с проведением или после проведения лучевой терапии. В одном из вариантов осуществления способы по настоящему изобретению включают введение антитела против PD-1 перед применением дозы лучевой терапии.

В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение 0-50 терапевтических доз, каждая является антителом против PD-1, где каждую дозу вводят через 0,5-12 недель после непосредственно предшествующей дозы. В одном из вариантов осуществления каждую дозу вводят через 1 неделю после непосредственно предшествующей дозы. В одном из вариантов осуществления каждую дозу вводят через 2 недели после непосредственно предшествующей дозы. В одном из вариантов осуществления каждую дозу вводят через 3 недели после непосредственно предшествующей дозы.

В определенных вариантах осуществления одна или несколько доз антитела против PD-1 и обяза-

тельно лучевая терапия входят в цикл лечения. Способы, в соответствии с этим аспектом изобретения, включают проведение пациенту по меньшей мере одного цикла лечения, где по меньшей мере один цикл лечения включает одну или несколько доз антитела против PD-1. В определенных вариантах осуществления вплоть до 12 циклов лечения вводят пациенту. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере один цикл лечения дополнительно содержит одну или несколько доз лучевой терапии. В определенных вариантах осуществления лучевую терапию вводят только в одном цикле лечения. В определенных вариантах осуществления лучевая терапия представляет собой гипофракционированную лучевую терапию. В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 вводят перед лучевой терапией.

В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 и лучевую терапию проводят в комбинации с дополнительным терапевтическим средством или терапией (например, циклофосфамид, или любое средство или терапия, раскрытые в настоящем описании).

В определенных вариантах осуществления лечение вызывает один или несколько терапевтических эффектов, выбранных из группы, состоящей из регресса опухоли, абскопального эффекта, ингибирования метастаза опухоли, уменьшения метастатических поражений в определенный период времени, уменьшенного применения химиотерапевтических или цитотоксических средств, снижения опухолевой нагрузки, повышения выживаемости без прогрессирования, повышения общей выживаемости, полного ответа, частичного ответа и стабильного заболевания.

В соответствии с определенными вариантами осуществления, антитело против PD-1 или антигенсвязывающий белок содержит определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) из варибельной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и CDR легкой цепи из варибельной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2. Один такой тип антигенсвязывающего белка, который можно использовать в контексте способов по настоящему изобретению, представляет собой антитело против PD-1, такое как REGN2810.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает применение антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента для производства лекарственного средства для лечения или ингибирования роста злокачественной опухоли у пациента, в том числе человека. В определенных вариантах осуществления злокачественная опухоль представляет собой солидную опухоль. В определенных вариантах осуществления злокачественная опухоль представляет собой рак толстой кишки, рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, рак головного мозга, рак шейки матки, рак мочевого пузыря, рак ануса, рак матки, рак ободочной кишки, рак печени, рак поджелудочной железы, рак легких, рак эндометрия, рак кости, рак яичек, рак кожи, рак почки, рак желудка, рак пищевода, рак головы и шеи, рак слюнной железы или миелому.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает применение антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента для производства лекарственного средства в комбинации с лучевой терапией для лечения или ингибирования роста злокачественной опухоли у пациента, в том числе человека. В определенных вариантах осуществления злокачественная опухоль представляет собой солидную опухоль. В определенных вариантах осуществления злокачественная опухоль представляет собой рак толстой кишки, рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, рак головного мозга, рак шейки матки, рак мочевого пузыря, рак ануса, рак матки, рак ободочной кишки, рак печени, рак поджелудочной железы, рак легких, рак эндометрия, рак кости, рак яичек, рак кожи, рак почки, рак желудка, рак пищевода, рак головы и шеи, рак слюнной железы или миелому.

В одном из аспектов, настоящее изобретение предусматривает набор для лечения пациента, страдающего злокачественной опухолью, набор содержит: (а) дозу антитела или его антигенсвязывающей части, которые специфически связываются с и ингибируют PD-1; и (b) инструкции для применения антитела против PD-1 для лечения пациента в соответствии со способами, раскрытыми в настоящем описании. В определенных вариантах осуществления злокачественная опухоль выбрана из группы, состоящей из рака толстой кишки, рака яичников, рака предстательной железы, рака молочной железы, рака головного мозга, рака шейки матки, рака мочевого пузыря, рака ануса, рака матки, рака ободочной кишки, рака печени, рака поджелудочной железы, рака легких, рака эндометрия, рака кости, рака яичек, рака кожи, рака почки, рака желудка, рака пищевода, рака головы и шеи, рака слюнной железы и миеломы.

Другие варианты осуществления настоящего изобретения станут очевидны при рассмотрении следующего подробного описания.

#### **Краткое описание чертежей**

На фиг. 1 представлен план исследования, включающий дозирование антитела против PD-1 и облучение (XRT) для мышей с имплантированными опухолями MC38 (исследование описано в примере 1 в настоящем описании).

На фиг. 2 представлен усредненный опухолевый рост у мышей, которых лечили антителом изотипического контроля (●), антителом против PD-1 (■), изотипическим контролем+облучением (XRT) (▲) или антителом против PD-1+XRT (▼) в исследовании, описанном в примере 1 в настоящем описании.

На фиг. 3 представлена общая выживаемость мышей, которых лечили антителом изотипического

контроля (●), антителом против PD-1 (■), изотипическим контролем+облучением (XRT) (▲) или антителом против PD-1+XRT (▼) в исследовании, описанном в примере 1 в настоящем описании.

На фиг. 4 представлен план исследования, включающий дозирование антитела против PD-1 и облучение (XRT) для мышей с имплантированными опухолями B16F10.9 (исследование описано в примере 2 в настоящем описании).

На фиг. 5 представлен усредненный опухолевый рост у мышей, которых лечили антителом изотипического контроля (●), антителом против PD-1 (■), изотипическим контролем+облучением (XRT) (◆) или антителом против PD-1+XRT (○) в исследовании, описанном в примере 2 в настоящем описании.

На фиг. 6 представлена общая выживаемость мышей, которых лечили антителом изотипического контроля (●), антителом против PD-1 (■), изотипическим контролем+облучением (XRT) (◆) или антителом против PD-1+XRT (○) в исследовании, описанном в примере 2 в настоящем описании.

На фиг. 7 представлен план исследования, включающий дозирование антитела против PD-1 и облучение (XRT) для мышей с имплантированными опухолями MC38 (исследование описано в примере 4 в настоящем описании).

На фиг. 8 представлен усредненный первичный опухолевый рост у мышей, которых лечили антителом изотипического контроля (●), антителом против PD-1 (■), изотипическим контролем+облучением (XRT) (▲) или антителом против PD-1+XRT (▼) в исследовании, описанном в примере 4 в настоящем описании.

На фиг. 9 представлена общая выживаемость мышей, которых лечили антителом изотипического контроля (●), антителом против PD-1 (■), изотипическим контролем+облучением (XRT) (▲) или антителом против PD-1+XRT (▼) в исследовании, описанном в примере 4 в настоящем описании.

На фиг. 10 представлен второй опухолевый рост у мышей, которых лечили антителом изотипического контроля (●), антителом против PD-1 (■), изотипическим контролем+облучением (XRT) (▲) или антителом против PD-1+XRT (▼) в исследовании, описанном в примере 4 в настоящем описании.

На фиг. 11 представлен план исследования, включающий дозирование антитела против PD-1, антитела против GITR и облучение (XRT) для мышей с имплантированными опухолями MC38 (исследование описано в примере 5 в настоящем описании).

На фиг. 12 представлен усредненный опухолевый рост у мышей, которых лечили антителом изотипического контроля (●), антителом против PD-1 (■), антителом против GITR (▲), комбинацией антитела против PD-1 и антитела против GITR (▼), изотипическим контролем+облучением (XRT) (◆), антителом против PD-1+XRT (○), антителом против GITR+XRT (□) или комбинацией антитела против PD-1, антитела против GITR+XRT (Δ) в исследовании, описанном в примере 5 в настоящем описании.

На фиг. 13 представлена общая выживаемость мышей, которых лечили антителом изотипического контроля (●), антителом против PD-1 (■), антителом против GITR (▲), комбинацией антитела против PD-1 и антитела против GITR (▼), изотипическим контролем+облучением (XRT) (◆), антителом против PD-1+XRT (○), антителом против GITR+XRT (□) или комбинацией антитела против PD-1, антитела против GITR+XRT (Δ) в исследовании, описанном в примере 5 в настоящем описании.

На фиг. 14A представлено радиографическое изображение легочных метастазов у пациента с базальноклеточной карциномой (BCC), обозначенных стрелками, на базовом уровне, слева, и на неделе 24, справа.

На фиг. 14B представлено радиографическое изображение шейной массы у пациента с плоскоклеточной карциномой кожи (CSCC) на базовом уровне, слева, и на неделе 16, справа.

#### **Осуществление изобретения**

Перед раскрытием описания настоящего изобретения следует понимать, что настоящее изобретение не ограничено конкретными описанными способами и экспериментальными условиями, поскольку такие способы и условия могут изменяться. Также следует понимать, что терминология, используемая в настоящем описании, служит только цели описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена в качестве ограничения, поскольку объем настоящего изобретения ограничен только приложенной формулой изобретения.

Если не определено иное, то все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют то же значение, в каком их обычно понимает специалист в области, к которой относится это изобретение. Как используют в настоящем описании, термин "приблизительно", когда используют по отношению к конкретному указанному числовому значению, обозначает, что значение может варьировать относительно указанного значения не больше чем на 1%. Например, как используют в настоящем описании, выражение "приблизительно 100" включает 99 и 101 и все значения между ними (например, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4 и т.д.).

Несмотря на то что любые способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, которые описаны в настоящем описании, можно использовать при практической реализации настоящего изобретения, предпочтительные способы и материалы описаны здесь. Все публикации, упомянутые в настоящем описании, включены в настоящее описание посредством ссылки для того, чтобы описывать в полном объеме.

Способы лечения или ингибирования роста злокачественной опухоли.

Настоящее изобретение включает способы лечения, улучшения или снижения тяжести по меньшей мере одного симптома или показания или ингибирования роста злокачественной опухоли у пациента. Способы в соответствии с этим аспектом изобретения включают введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с PD-1. В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 вводят в комбинации с противоопухолевой терапией (описанной в другом месте в настоящем описании). В одном из вариантов осуществления противоопухолевая терапия представляет собой лучевую терапию. Как используют в настоящем описании, термины "лечить", "лечение" или тому подобное обозначают облегчать симптомы, устранять причину симптомов на временной или постоянной основе, задерживать или ингибировать опухолевый рост, чтобы снизить нагрузку опухолевых клеток или опухолевую нагрузку, способствовать регрессу опухоли, вызывать уменьшение опухоли, некроз и/или исчезновение, чтобы предотвращать рецидив опухоли, чтобы предотвращать или ингибировать метастазирование, чтобы ингибировать метастатический опухолевый рост и/или увеличивать длительность выживаемости индивида.

Как используют в настоящем описании, выражение "пациент" обозначает человека или не относящееся к человеку млекопитающее, которые проявляют один или несколько симптомов или показаний злокачественной опухоли, и/или у которых диагностировали злокачественную опухоль, в том числе солидную опухоль, и которые нуждаются в ее лечении. Во многих вариантах осуществления, термин "индивид" можно использовать взаимозаменяемо с термином "пациент". Например, у пациента человека можно диагностировать первичную или метастатическую опухоль и/или один или несколько симптомов или показаний, включая в качестве неограничивающих примеров, необъяснимую потерю массы, общую слабость, постоянное утомление, потерю аппетита, лихорадку, ночную потливость, боли в костях, одышку, вздутый живот, боль в груди/давление, увеличение селезенки и подъем уровня биологического маркера, связанного со злокачественной опухолью (например, CA125). Выражение включает индивидов с первичными или развившимися опухолями. В конкретных вариантах осуществления этот термин включает человека, который страдает и/или нуждается в лечении солидной опухоли, например, рака ободочной кишки, рака молочной железы, рака легких, рака предстательной железы, рака кожи, рака печени, рака кости, рака яичников, рака шейки матки, рака поджелудочной железы, рака головы и шеи и рака головного мозга. Термин включает индивидов с первичными или метастатическими опухолями (распространенные злокачественные новообразования). В определенных вариантах осуществления выражение "пациент" включает пациентов с солидной опухолью, которая резистентна или рефракторна к или в недостаточной мере поддается контролю с помощью предшествующей терапии (например, лечение средством против злокачественной опухоли). Например, выражение включает индивидов, которых лечили с использованием одной или нескольких линий предшествующей терапии, таких как лечение с использованием химиотерапии (например, карбоплатин или доцетаксел). В определенных вариантах осуществления выражение "пациент" включает пациентов с солидной опухолью, которых лечили с использованием одной или нескольких линий предшествующей терапии, но которые впоследствии имели рецидивы или метастазы. Например, пациентов с солидной опухолью, которые могли получить лечение одним или несколькими средствами против злокачественной опухоли, ведущее к регрессу опухоли; однако впоследствии имели рецидив злокачественной опухоли, резистентной к одному или нескольким средствам против злокачественной опухоли (например, резистентная к химиотерапии злокачественная опухоль), лечат способами по настоящему изобретению. Выражение также включает индивидов с солидной опухолью, у которых стандартная терапия против злокачественных опухолей является нецелесообразной, например, из-за токсических побочных эффектов. Например, выражение включает пациентов, которые получали один или несколько циклов химиотерапии с токсическими побочными эффектами.

В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению можно использовать для лечения пациентов, у которых отмечают повышенные уровни одного или нескольких ассоциированных со злокачественной опухолью биологических маркеров [например, лиганд белка 1 запрограммированной смерти (PD-L1), CA125, CA19-9, специфический антиген предстательной железы (PSA), лактатдегидрогеназа, KIT, эмбриональный опухолевый антиген, рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), перестройка генов ALK]. Например, способы по настоящему изобретению включают введение терапевтически эффективного количества антитела против PD-1 в комбинации с лучевой терапией пациенту с повышенным уровнем PD-L1 и/или EGFR. В предпочтительном варианте осуществления способы по настоящему изобретению применяют у пациентов со злокачественной опухолью, которых отбирают на основе экспрессии PD-L1 в ткани злокачественной опухоли. В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению используют для того, чтобы лечить пациентов со злокачественной опухолью, где пациентов отбирают на основе по меньшей мере 1%, по меньшей мере 2%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 10%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40% или по меньшей мере 50% экспрессии PD-L1 в ткани злокачественной опухоли и/или клетках иммунной системы. Способы определения экспрессии PD-L1 в ткани злокачественной опухоли и/или клетках иммунной системы хорошо известны в данной области. В определенных вариантах осуществления экспрессию PD-L1 в опухолевой ткани определяют с помощью любого анализа, известного в данной

области, например, с помощью анализа ELISA или иммуногистохимического (ИHC) анализа, как описано в публикациях PCT WO 2016124558 или WO 2016191751 или публикации патентной заявки US 20160305947. В определенных вариантах осуществления экспрессию PD-L1 определяют посредством количественного определения экспрессии РНК, например, посредством гибридизации *in situ* или посредством RT-ПЦР. В определенных вариантах осуществления экспрессию PD-L1 определяют посредством визуализации с использованием меченного антитела против PD-L1, например, посредством иммунной позитронно-эмиссионной томографии или iPET [см., например, *The Oncologist*, 12: 1379 (2007); *Journal of Nuclear Medicine*, 52(8): 1171 (2011); предварительную патентную заявку US № 62/428,672, поданную 1 декабря 2016 года].

В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению используют у пациента с солидной опухолью. Термины "опухоль", "рак" и "злокачественное новообразование" взаимозаменяемо используют в настоящем описании.

Как используют в настоящем описании, термин "солидная опухоль" относится к аномальной массе ткани, которая обычно не содержит кисты или жидкие области. Солидные опухоли могут быть доброкачественными (незлокачественная опухоль) или метастазирующими (злокачественная опухоль). Для целей настоящего изобретения термин "солидная опухоль" обозначает метастазирующие солидные опухоли. Термин включает солидные опухоли различных типов, называемые по типам клеток, образующих их, например саркомы, карциномы и лимфомы. Однако термин не включает лейкозы. В различных вариантах осуществления термин "солидная опухоль" включает злокачественные опухоли, возникающие из соединительной или опорной ткани (например, кость или мышца) (называемые саркомами), злокачественные опухоли, возникающие из соматических железистых клеток и эпителиальных клеток, которые выстилают ткани организма (обозначаемые карциномами), и злокачественные опухоли лимфоидных органов, таких как лимфатические узлы, селезенка и тимус (обозначаемые лимфомами). Лимфоидные клетки встречаются почти во всех тканях организма и, следовательно, лимфомы могут развиваться в широком спектре органов. В определенных вариантах осуществления термин "солидная опухоль" включает злокачественные опухоли, в том числе в качестве неограничивающих примеров рак толстой кишки, рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, рак головного мозга, рак шейки матки, рак мочевого пузыря, рак ануса, рак матки, рак ободочной кишки, рак печени, рак поджелудочной железы, рак легких, рак эндометрия, рак кости, рак яичек, рак кожи, рак почки, рак желудка, рак пищевода, рак головы и шеи, рак слюнной железы и миелому. В определенных вариантах осуществления термин "солидная опухоль" включает злокачественные опухоли, в том числе в качестве неограничивающих примеров гепатоцеллюлярную карциному, мелкоклеточный рак легких, плоскоклеточный рак головы и шеи, базальноклеточную карциному, карциному груди, плоскоклеточную карциному кожи, хондросаркому, ангиосаркому, холангиокарциному, саркому мягких тканей, рак толстой кишки, меланому, карциному из клеток Меркеля и мультиформную глиобластому. В определенных вариантах осуществления термин "солидная опухоль" включает больше чем одно солидное опухолевое поражение, которые расположены отдельно друг от друга, например, 2, больше чем 2, больше чем 5, больше чем 10, больше чем 15, больше чем 20 или больше чем 25 повреждений у пациента, нуждающегося в лечении. В определенных вариантах осуществления больше чем одно поражений расположены дистально друг от друга в одном и том же органе. В определенных других вариантах осуществления опухолевые поражения могут располагаться в различных органах.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение включает способы лечения или ингибирования роста злокачественной опухоли, включая в качестве неограничивающих примеров рак толстой кишки, рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, рак головного мозга, рак шейки матки, рак мочевого пузыря, рак ануса, рак матки, рак ободочной кишки, рак печени, рак поджелудочной железы, рак легких, рак эндометрия, рак кости, рак яичек, рак кожи, рак почки, рак желудка, рак пищевода, рак головы и шеи, рак слюнной железы и миелому. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение включает способы лечения или ингибирования роста злокачественной опухоли, включая в качестве неограничивающих примеров гепатоцеллюлярную карциному, мелкоклеточный рак легких, плоскоклеточный рак головы и шеи, базальноклеточную карциному, плоскоклеточную карциному кожи, хондросаркому, ангиосаркому, холангиокарциному, саркому мягких тканей, рак толстой кишки, меланому, карциному из клеток Меркеля и мультиформную глиобластому. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение включает способы лечения распространенных солидных опухолей, включая в качестве неограничивающих примеров метастатическую плоскоклеточную карциному кожи (CSCC), нерезектабельную местно распространенную CSCC, метастатический рак толстой кишки, распространенный или метастатический гепатоцеллюлярный рак, распространенный мелкоклеточный рак легких, базальноклеточную карциному, рецидивирующую мультиформную глиобластому, кастрационную рецидивирующий рак предстательной железы и любую распространенную солидную опухоль, рефракторную к терапии первой линии. Способы, в соответствии с этим аспектом, включают введение терапевтически эффективного количества антитела против PD-1. В определенных вариантах осуществления способы включают введение терапевтически эффективного количества антитела против PD-1 в комбинации с противоопухолевой терапией.

Противоопухолевая терапия включает, но не ограничиваясь этим, стандартную противоопухолевую терапию, такую как химиотерапия, облучение, хирургическое вмешательство. Другие противоопухолевые терапии описаны в другом месте в настоящем описании. В одном из вариантов осуществления противоопухолевая терапия включает лучевую терапию. В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 вводят пациенту, где каждую дозу вводят через 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 недель после непосредственно предшествующей дозы. В определенных вариантах осуществления каждая доза содержит 0,1-10 мг/кг (например, 0,3, 1, 3 или 10 мг/кг) массы тела пациента. В определенных других вариантах осуществления каждая доза содержит 20-600 мг антитела против PD-1, например, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400 или 500 мг антитела против PD-1.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение включает способы лечения злокачественной опухоли или ингибирования роста злокачественной опухоли с микросателлитной нестабильностью (MSI). Как используют в настоящем описании, термин "микросателлитная нестабильность", также известная как "MSI", относится к изменению в микросателлитных повторах в опухолевых клетках или генетическую гипермутабельность, обусловленную недостаточной репарацией ошибочного спаривания ДНК. Микросателлиты, также известные как простые повторы последовательностей, представляют собой повторяющиеся последовательности ДНК, содержащие повторяющиеся звенья 1-6 пар оснований в длину. Несмотря на то что длина микросателлитов сильно варьирует от человека к человеку и вносит вклад в ДНК фингерпринт, каждый индивидуум имеет микросателлиты заданной длины. MSI является результатом неспособности белков репарации ошибочного спаривания (MMR) исправлять ошибки репликации ДНК. MSI содержит полиморфизмы ДНК, в которых ошибки репликации варьируют по длине, а не по последовательности. MSI включает мутации со сдвигом рамки, через инсерции или делеции, или гиперметилирование, ведущее к сайленсингу генов. В данной области известно, что микросателлитная нестабильность может вести к раку ободочной кишки, раку желудка, раку эндометрия, раку яичников, раку гепатобилиарных путей, раку мочевых путей, раку головного мозга и злокачественным опухолям кожи. Настоящее изобретение включает способы лечения злокачественных опухолей с MSI, способы включают введение нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества антитела против PD-1, необязательно, в комбинации с лучевой терапией.

Один из вариантов осуществления изобретения относится к антителу против PD-1 (например, REGN2810) для применения в лечении распространенных солидных опухолей с MSI, включая в качестве неограничивающих примеров метастатический рак толстой кишки с MSI, метастатический рак эндометрия с MSI и кастрационный рецидивирующий рак предстательной железы с MSI. В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 вводят индивиду с распространенной солидной опухолью с MSI, где каждая доза содержит от 0,1 до 20 мг/кг массы тела пациента и где каждую дозу вводят через от 0,5 до 4 недель после непосредственно предшествующей дозы. В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 вводят индивиду с распространенной солидной опухолью с MSI, где каждая доза содержит 20-600 мг антитела против PD-1 и где каждую дозу вводят через от 0,5 до 4 недель после непосредственно предшествующей дозы.

Как используют в настоящем описании, термин "лучевая терапия", также обозначаемый как "XRT", обозначает использование ионизирующего облучения для уничтожения клеток злокачественной опухоли, в целом в качестве части терапии против злокачественных опухолей. Рентгеновские лучи, гамма-лучи или заряженные частицы (например, протоны или электроны) используют для создания ионизирующего облучения. Лучевую терапию можно проводить с помощью прибора, расположенного вне организма пациента (лучевая терапия внешним пучком), или с помощью источника, расположенного внутри организма пациента (внутренняя лучевая терапия или брахитерапия), или через системные радиоизотопы, доставляемые внутривенно или перорально (системная радиоизотопная терапия).

Лучевую терапию можно планировать и вводить в сочетании со способами на основе визуализации, такими как компьютерная томография (СТ), магнитно-резонансная визуализация (MRI), для точного определения дозы и местоположение облучения, подлежащего проведению. В различных вариантах осуществления, лучевая терапия выбрана из группы, состоящей из полной лучевой терапии всего тела, стандартной лучевой терапии внешним пучком, стереотаксического радиохирургического вмешательства, стереотаксической лучевой терапии организма, трехмерной конформной лучевой терапии, лучевой терапии с модуляцией интенсивности, лучевой терапии с визуальным контролем, томотерапии, брахитерапии и системной лучевой терапии. В зависимости от цели, в определенных вариантах осуществления лучевая терапия является лечебной, вспомогательной или паллиативной. В конкретных вариантах осуществления термин "лучевая терапия" относится к гипофракционированной лучевой терапии. Гипофракционированная лучевая терапия относится к лучевой терапии, при которой доза облучения содержится в 2 или больше фракциях. В различных вариантах осуществления каждая фракция содержит 2-20 Гр. Например, дозу облучения 50 Гр можно делить на 10 фракций, каждая содержит 5 Гр. В определенных вариантах осуществления 2 или больше фракций вводят в следующие или последовательные сутки. В других определенных вариантах осуществления 2 или больше фракций вводят раз в 2 суток, раз в 3 суток, раз в 4 суток, раз в 5 суток, раз в 6 суток, раз в 7 суток или в их сочетаниях.

В соответствии с определенными вариантами осуществления, настоящее изобретение включает



способы лечения или задержки или ингибирования роста опухоли. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение включает способы содействия регрессу опухоли. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение включает способы снижения нагрузки опухолевых клеток или снижения опухолевой нагрузки. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение включает способы предотвращения рецидива опухоли. Способы, в соответствии с этим аспектом изобретения, включают последовательное введение терапевтически эффективного количества антитела против PD-1 в комбинации с лучевой терапией пациенту, где антитело вводят индивиду несколькими дозами, например, в качестве части конкретной терапевтической схемы дозирования. Например, терапевтическая схема дозирования может включать введение одной или нескольких доз антитела против PD-1 индивиду с частотой приблизительно раз в сутки, раз в 2 суток, раз в 3 суток, раз в 4 суток, раз в 5 суток, раз в 6 суток, раз в неделю, раз в 2 недели, раз в 3 недели, раз в 4 недели, раз в месяц, раз в 2 месяца, раз в 3 месяца, раз в 4 месяца или менее часто. В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 вводят в комбинации с одной или несколькими дозами лучевой терапии, где одну или несколько доз облучения вводят индивиду с частотой приблизительно раз в сутки, раз в 2 суток, раз в 3 суток, раз в 4 суток, раз в 5 суток, раз в 6 суток, раз в неделю, раз в 2 недели, раз в 3 недели, раз в 4 недели, раз в месяц, раз в 2 месяца, раз в 3 месяца, раз в 4 месяца или менее часто.

В определенных вариантах осуществления одна или несколько доз входят в цикл лечения. Способы, в соответствии с этим аспектом, включают проведение пациенту по меньшей мере одного цикла лечения, где по меньшей мере один цикл лечения включает 1-10 доз антитела против PD-1 и необязательно одну или несколько доз лучевой терапии. В определенных вариантах осуществления 2-12 циклов лечения вводят пациенту.

В конкретных вариантах осуществления, настоящее изобретение предусматривает способы увеличенного противоопухолевого эффекта или увеличенного ингибирования опухоли. Способы, в соответствии с этим аспектом изобретения, включают введение индивиду с солидной опухолью терапевтически эффективного количества антитела против PD-1 перед введением дозы облучения, где антитело против PD-1 можно вводить приблизительно за 1 сутки, больше чем 1 сутки, больше чем 2 суток, больше чем 3 суток, больше чем 4 суток, больше чем 5 суток, больше чем 6 суток, больше чем 7 суток или больше чем 8 суток до лучевой терапии. В определенных вариантах осуществления способы предусматривают увеличенное ингибирование опухоли, например, приблизительно на 20%, больше чем на 20%, больше чем на 30%, больше чем на 40%, больше чем на 50%, больше чем на 60%, больше чем на 70% или больше чем на 80% по сравнению с индивидом, которому вводили дозу облучения перед антителом против PD-1. В определенных вариантах осуществления лучевая терапия включает гипофракционированную лучевую терапию.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способы лечения злокачественной опухоли, способы включают выбор пациента с первым опухолевым повреждением и по меньшей мере вторым опухолевым повреждением и введение одной или нескольких доз антитела против PD-1 в комбинации с лучевой терапией так, что лечат оба повреждения. В конкретных вариантах осуществления, способы включают введение лучевой терапии в первое опухолевое повреждение, но не во второе опухолевое повреждение, где введение ведет к регрессу опухоли в обоих опухолевых повреждениях (абскопальный эффект). В определенных вариантах осуществления способы включают выбор пациента с первым опухолевым повреждением и по меньшей мере вторым опухолевым повреждением и введение одной или нескольких доз антитела против PD-1 в комбинации с гипофракционированной лучевой терапией, где гипофракционированную лучевую терапию вводят в первое повреждение, но не во второе повреждение, и где лечат оба повреждения при таком введении. В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 вводят перед лучевой терапией.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение включает способы лечения злокачественной опухоли, способы включают введение индивиду, нуждающемуся в этом, одной или нескольких субтерапевтических доз антитела против PD-1 в комбинации с одной или несколькими противоопухолевыми терапиями, например, лучевой терапией. Как определено в другом месте в настоящем описании, термин "субтерапевтическая доза" относится к дозе меньше терапевтической дозы, которую можно использовать для того, чтобы снижать токсичность вводимой терапии. В определенных вариантах осуществления введение субтерапевтической дозы антитела против PD-1 в комбинации с лучевой терапией ведет к терапевтическому противоопухолевому эффекту по сравнению со введением только субтерапевтической дозы антитела против PD-1. В определенных других вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение терапевтически эффективного количества антитела против PD-1 в комбинации с субтерапевтической дозой противоопухолевой терапии, такой как химиотерапия или облучение. Например, терапевтически эффективное количество антитела против PD-1 можно вводить в комбинации с субтерапевтической дозой циклофосфида, для увеличенного эффекта по сравнению с любой монотерапией.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение включает способы ингибирования, замедления или остановки метастазирования опухоли или инфильтрации опухоли в периферические органы. Способы, в соответствии с этим аспектом, включают введение терапевтически эффективного

количества антитела против PD-1 пациенту. В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 вводят в комбинации с облучением. В одном из вариантов осуществления облучение представляет собой гипофракционированное облучение. В одном из вариантов осуществления облучение вводят после введения одной или нескольких доз антитела против PD-1.

В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают проведение терапевтически эффективного количества антитела против PD-1 индивиду с распространенными солидными опухолями. В конкретных вариантах осуществления распространенная солидная опухоль представляет собой метастатическую злокачественную опухоль легких, злокачественную опухоль головы и шеи, гепатоцеллюлярную злокачественную опухоль или злокачественную опухоль молочной железы. В определенных других вариантах осуществления распространенная солидная опухоль представляет собой плоскоклеточную злокачественную опухоль кожи. В определенных вариантах осуществления распространенная солидная опухоль является вялотекущей или агрессивной. В определенных вариантах осуществления индивид не отвечает на предшествующую терапию или имел рецидив после предшествующей терапии (например, карбоплатином). В определенных вариантах осуществления индивид имеет распространенную солидную опухоль, которая рефракторна к химиотерапии первой линии. В определенных дополнительных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению дополнительно включают введение облучения и/или циклофосфида индивиду с распространенной солидной опухолью.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение включает способы лечения или ингибирования роста злокачественной опухоли, включая в качестве неограничивающих примеров рак толстой кишки, рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, рак головного мозга, рак шейки матки, рак мочевого пузыря, рак ануса, рак матки, рак ободочной кишки, рак печени, рак поджелудочной железы, рак легких, рак эндометрия, рак кости, рак яичек, рак кожи, рак почки, рак желудка, рак пищевода, рак головы и шеи, рак слюнной железы и миелому. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение включает способы лечения или ингибирования роста злокачественной опухоли, включая в качестве неограничивающих примеров гепатоцеллюлярную карциному, немелкоклеточный рак легких, плоскоклеточный рак головы и шеи, базальноклеточную карциному, плоскоклеточную карциному кожи, хондросаркому, ангиосаркому, холангиокарциному, саркому мягких тканей, рак толстой кишки, меланому, карциному из клеток Меркеля и мультиформную глиобластому. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение включает способы лечения распространенных солидных опухолей, включая в качестве неограничивающих примеров метастатическую плоскоклеточную карциному кожи (CSCC), нерезектабельную местно распространенную CSCC, метастатическую злокачественную опухоль толстой кишки, распространенный или метастатический гепатоцеллюлярный рак, распространенный немелкоклеточный рак легких, рецидивирующую мультиформную глиобластому, вновь диагностированную мультиформную глиобластому, кастрационный рецидивирующий рак предстательной железы и любую распространенную солидную опухоль, рефракторную к терапии первой линии.

По одному из аспектов, настоящее изобретение включает способы лечения или ингибирования роста опухоли, способы включают: (a) отбор пациента с плоскоклеточной карциномой кожи (CSCC), где пациента отбирают на основе признака, выбранного из группы, состоящей из: (i) пациент имеет местно распространенную CSCC; (ii) пациент имеет метастатическую CSCC; (iii) опухоль является нерезектабельной; (iv) пациент ранее получал лечение с использованием по меньшей мере одной противоопухолевой терапии; (v) пациент страдает заболеванием, которое считают неоперабельным; (vi) хирургическое вмешательство и/или облучение противопоказано; (vii) пациента ранее получал лечение облучением и опухоль резистентна или не отвечает на облучение; (viii) пациент имеет местно распространенную CSCC и не подлежит хирургическому вмешательству с лечебной целью; (ix) опухоль содержит УФ-индуцированное повреждение ДНК; и (x) у пациента отмечается  $\geq 1\%$ ,  $\geq 5\%$  или  $\geq 10\%$  экспрессия PD-L1 в опухолевых клетках; и (b) введение терапевтически эффективного количества антитела против PD-1 пациенту. В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 вводят через 1-12 недель после непосредственно предшествующей дозы, например, через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 недель после непосредственно предшествующей дозы. В определенных вариантах осуществления каждая доза антитела против PD-1 содержит 0,1, 1, 0,3, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 мг/кг массы тела пациента. В определенных вариантах осуществления каждая доза содержит 50-500 мг антитела против PD-1, например, 200 мг, 250 мг или 350 мг антитела против PD-1, где каждую дозу вводят через 0,5, 1, 2, 3 или 4 недели после непосредственно предшествующей дозы. В одном из вариантов осуществления антитело против PD-1 представляет собой REGN2810.

В соответствии с одним из аспектов, настоящее изобретение включает способы лечения или ингибирования роста опухоли, способы включают: (a) отбор пациента с базальноклеточной карциномой (BCC), где пациента выбирают на основе признака, выбранного из группы, состоящей из: (i) пациент имеет местно распространенную BCC; (ii) пациент имеет метастатическую BCC; (iii) опухоль является нерезектабельной; (iv) пациент ранее получал лечение с использованием по меньшей мере одной противоопухолевой терапии; (v) пациента ранее лечили и отмечалось прогрессирование при лечении ингиби-

тором пути Hedgehog (например, висмодегиб, сонедегиб); (vi) пациент нетолерантен к ингибитору пути Hedgehog; (vii) пациент страдает заболеванием, которое считают неоперабельным, или не подлежит хирургическому вмешательству с лечебной целью; (viii) хирургическое вмешательство и/или облучение противопоказано; (ix) пациент ранее получал лечение облучением и опухоль резистентна или не отвечает на облучение; (viii) у пациента отмечается  $\geq 1$ ,  $\geq 5$  или  $\geq 10\%$  экспрессия PD-L1 в опухолевых клетках; и (ix) опухоль содержит УФ-индуцированное повреждение ДНК; и (b) введение терапевтически эффективного количества антитела против PD-1 пациенту. В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 вводят через 1-12 недель после непосредственно предшествующей дозы, например, через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 недель после непосредственно предшествующей дозы. В определенных вариантах осуществления каждая доза антитела против PD-1 содержит 0,1, 1, 0,3, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 мг/кг массы тела пациента. В определенных вариантах осуществления каждая доза содержит 50-500 мг антитела против PD-1, например 200, 250 или 350 мг антитела против PD-1, где каждую дозу вводят через 0,5, 1, 2, 3 или 4 недели после непосредственно предшествующей дозы. В одном из вариантов осуществления антитело против PD-1 представляет собой REGN2810.

В определенных вариантах осуществления каждую дозу антитела против PD-1 вводят через 1 неделю, 2 недели, 3 недели или 4 недели после непосредственно предшествующей дозы, где каждая доза содержит 50-600 мг антитела против PD-1. В одном из вариантов осуществления каждая доза содержит 200, 250, 300 или 350 мг антитела против PD-1.

Один из вариантов осуществления изобретения относится к антителу против PD-1 (например, REGN2810) для применения при лечении холангиокарциномы. В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 вводят индивиду с холангиокарциномой, где каждая доза содержит от 0,1 до 20 мг/кг массы тела пациента и где каждую дозу вводят через от 0,5 до 4 недель после непосредственно предшествующей дозы. В определенных вариантах осуществления каждая доза содержит 50-500 мг антитела против PD-1, например 200, 250 или 350 мг антитела против PD-1, где каждую дозу вводят через 0,5, 1, 2, 3 или 4 недели после непосредственно предшествующей дозы.

Один из вариантов осуществления изобретения относится к антителу против PD-1 (например, REGN2810) для применения при лечении распространенной гепатоцеллюлярной злокачественной опухоли (HCC). В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 вводят индивиду с HCC, где каждая доза содержит от 0,1 до 20 мг/кг массы тела пациента и где каждую дозу вводят через от 0,5 до 4 недель после непосредственно предшествующей дозы. В определенных вариантах осуществления каждая доза содержит 50-500 мг антитела против PD-1, например, 200 мг, 250 мг или 350 мг антитела против PD-1, где каждую дозу вводят через 0,5, 1, 2, 3 или 4 недели после непосредственно предшествующей дозы.

Один из вариантов осуществления изобретения относится к антителу против PD-1 (например, REGN2810) для применения в лечении саркомы мягких тканей. В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 вводят индивиду с саркомой мягких тканей, где каждая доза содержит от 0,1 до 20 мг/кг массы тела пациента и где каждую дозу вводят через от 0,5 до 4 недель после непосредственно предшествующей дозы. В определенных вариантах осуществления каждая доза содержит 50-500 мг антитела против PD-1, например, 200, 250 или 350 мг антитела против PD-1, где каждую дозу вводят через 0,5, 1, 2, 3 или 4 недели после непосредственно предшествующей дозы.

Один из вариантов осуществления изобретения относится к антителу против PD-1 (например, REGN2810) для использования в лечении немелкоклеточной злокачественной опухоли легких (NSCLC). В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 вводят индивиду с NSCLC, где каждая доза содержит от 0,1 до 20 мг/кг массы тела пациента и где каждую дозу вводят через от 0,5 до 4 недель после непосредственно предшествующей дозы. В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 вводят индивиду с NSCLC, где каждая доза содержит 50-600 мг антитела против PD-1, и где каждую дозу вводят через от 0,5 до 4 недель после непосредственно предшествующей дозы.

По одному из аспектов, настоящее изобретение включает способы лечения или ингибирования роста опухоли, способы включают отбор пациента с раком головного мозга и введение терапевтически эффективного количества антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента индивиду, нуждающемуся в этом. В определенных вариантах осуществления злокачественная опухоль головного мозга представляет собой мультиформную глиобластому. В одном из вариантов осуществления индивид имеет вновь диагностированную мультиформную глиобластому. В одном из вариантов осуществления индивид имеет возраст  $\geq 65$  лет. В одном из вариантов осуществления антитело против PD-1 вводят в виде одной или нескольких доз, где каждую дозу вводят через от 0,5 до 4 недель после непосредственно предшествующей дозы. В одном из вариантов осуществления каждая доза антитела против PD-1 содержит 1, 3 или 10 мг/кг массы тела пациента. В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 вводят в комбинации с лучевой терапией. В одном из вариантов осуществления лучевая терапия представляет собой гипофракционированную лучевую терапию. В одном из вариантов осуществления индивиду вводят 20-60 Гр в 2-20 фракциях. В определенных вариантах осуществления одна или несколько доз антите-

ла против PD-1 содержатся в одном или нескольких циклах лечения, где каждый цикл лечения включает 1-6 доз антитела против PD-1. В одном из вариантов осуществления по меньшей мере один цикл лечения дополнительно содержит лучевую терапию. В дополнительном варианте осуществления лучевая терапия представляет собой гипофракционированную лучевую терапию. В определенных вариантах осуществления индивиду вводят гипофракционированную лучевую терапию в первом цикле лечения, где гипофракционированная лучевая терапия содержит 20-60 Гр в 2-20 фракциях. В одном из вариантов осуществления индивиду проводят гипофракционированную лучевую терапию через одну неделю после введения антитела против PD-1 в первом цикле лечения. В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению дополнительно включают введение антиангиогенного средства индивиду, если у пациента развивается внутричерепной отек после введения антитела против PD-1. В одном из вариантов осуществления антиангиогенное средство представляет собой ингибитор фактора роста эндотелия сосудов (VEGF). В одном из вариантов осуществления антиангиогенное средство представляет собой ингибитор ангиопоэтина-2 (Ang-2) (например, антитело против Ang-2, такое как несвакумаб). В определенных вариантах осуществления ингибитор VEGF выбирают из группы, состоящей из VEGF-ингибирующего слитого белка (например, "VEGF-Trap", такого как афлиберцент или другой VEGF-ингибирующий слитый белок, как изложено в US 7087411), антитела против VEGF (например, бевацизумаба) и низкомолекулярного ингибитора киназы рецептора VEGF (например, сунитиниба, сорафениба или пазопаниба).

В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение антитела против PD-1 в комбинации с проведением лучевой терапией пациенту в качестве лечения "первой линии" (например, начального лечения). В других вариантах осуществления антитело против PD-1 в комбинации с лучевой терапией вводят в качестве лечения "второй линии" (например, после предшествующей терапии). Например, антитело против PD-1 в комбинации с лучевой терапией вводят в качестве лечения "второй линии" индивиду, который имел рецидив после предшествующей терапии, например, химиотерапии.

Способы по настоящему изобретению, в соответствии с определенными вариантами осуществления, включают введение индивиду терапевтически эффективного количества антитела против PD-1 и облучения в комбинации с дополнительным терапевтическим средством или терапевтической схемой или процедурой. Дополнительное терапевтическое средство или терапевтическую схему или процедуру можно проводить для повышения противоопухолевого эффекта, для снижения токсических эффектов одной или нескольких терапий и/или снижения дозы одной или нескольких терапий. В различных вариантах осуществления, дополнительное терапевтическое средство или терапевтическую схему или процедуру выбирают из группы, состоящей, например, из химиотерапии, циклофосфида, хирургического вмешательства, вакцины против злокачественной опухоли, ингибитора лиганда запрограммированной смерти 1 (PD-L1) (например, антитела против PD-L1), ингибитора гена активации лимфоцитов 3 (LAG3) (например, антитела против LAG3), ингибитора белка 4, ассоциированного с цитотоксическими Т-лимфоцитами (CTLA-4) (например, ипилимумаба), ингибитор рецептора индуцированного глюкокортикоидами фактора некроза опухоли (GITR) (например, антитела против GITR), ингибитора, содержащего Т-клеточный иммуноглобулин и муцин-3 (TIM3), ингибитора В- и Т-лимфоцитарного аттенуатора (BTLA), ингибитора Т-клеточного иммунорецептора с доменами Ig и ITIM (TIGIT), ингибитора CD47, ингибитора индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO), антагониста фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), ингибитора ангиопоэтина-2 (Ang2), ингибитор трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF $\beta$ ), ингибитора рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), антитела к опухолеспецифическому антигену [например, CA9, CA125, ассоциированному с меланомой антигену 3 (MAGE3), эмбриональному опухолевому антигену (CEA), виментин, M2-РК опухолей, специфическому антигену предстательной железы (PSA), муцину-1, MART-1 и CA19-9], биспецифического антитела против CD3/против CD20, вакцины (например, бацилла Кальметта-Герена), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, цитотоксина, химиотерапевтического средства, ингибитора IL-6R, ингибитора IL-4R, ингибитора IL-10, цитокина, такого как IL-2, IL-7, IL-21 и IL-15, противовоспалительного лекарственного средства, такого как кортикостероиды и нестероидные противовоспалительные лекарственные средства, и пищевой добавки, такой как антиоксиданты. В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 можно вводить в комбинации с терапией, включающей химиотерапевтическое средство, и хирургическим вмешательством. Как используют в настоящем описании, фраза "в комбинации с" обозначает, что антитело против PD-1 вводят индивиду одновременно, непосредственно перед или сразу после проведения лучевой терапии и дополнительного терапевтического средства. В определенных вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство вводят в виде совместного состава с антителом против PD-1.

Один из вариантов осуществления изобретения относится к комбинации антитела против PD-1 (например, REGN2810), лучевой терапии, циклофосфида и GM-CSF для использования в лечении плоскоклеточной карциномы головы и шеи (HNSCC). В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 вводят индивиду с HNSCC, где каждая доза содержит от 0,1 до 20 мг/кг массы тела пациента и где каждую дозу вводят через от 0,5 до 4 недель после непосредственно

предшествующей дозы. В определенных вариантах осуществления каждая доза содержит 50-500 мг антитела против PD-1, например 200, 250 или 350 мг антитела против PD-1, где каждую дозу вводят через 0,5, 1, 2, 3 или 4 недели после непосредственно предшествующей дозы.

Один из вариантов осуществления изобретения относится к комбинации антитела против PD-1 (например, REGN2810), лучевой терапии и циклофосфида для использования в лечении злокачественной опухоли молочной железы. В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 вводят индивиду со злокачественной опухолью молочной железы, где каждая доза содержит от 0,1 до 20 мг/кг массы тела пациента и где каждую дозу вводят через от 0,5 до 4 недель после непосредственно предшествующей дозы.

Один из вариантов осуществления изобретения относится к комбинации антитела против PD-1 (например, REGN2810), лучевой терапии, циклофосфида и GM-CSF для использования в лечении распространенных солидных опухолей у пациентов, которых предварительно лечили антителом против PD-1 или антителом против PD-L1. В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 вводят нуждающемуся в этом пациенту, где каждая доза содержит от 0,1 до 20 мг/кг массы тела пациента и где каждую дозу вводят через от 0,5 до 4 недель после непосредственно предшествующей дозы.

Один из вариантов осуществления изобретения относится к комбинации антитела против PD-1 (например, REGN2810), доцетаксела и, необязательно, карбоплатина для использования в лечении распространенных солидных опухолей, которые рефракторны к химиотерапии первой линии. В определенных вариантах осуществления доцетаксел вводят в низкой дозе. В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 вводят пациенту, где каждая доза содержит от 0,1 до 20 мг/кг массы тела пациента и где каждую дозу вводят через от 0,5 до 4 недель после непосредственно предшествующей дозы.

Один из вариантов осуществления изобретения относится к комбинации антитела против PD-1 (например, REGN2810) и лучевой терапии для использования в лечении вновь диагностированной или рецидивирующей мультиформной глиобластомы (GBM). В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 вводят пациенту, где каждая доза содержит от 0,1 до 20 мг/кг массы тела пациента и где каждую дозу вводят через от 0,5 до 4 недель после непосредственно предшествующей дозы. В определенных вариантах осуществления облучение представляет собой гипофракционированную лучевую терапию, как раскрыто в настоящем описании.

Определенные варианты осуществления изобретения относятся к комбинации антитела против PD-1 (например, REGN2810) и лучевой терапии для использования в лечении плоскоклеточной карциномы шейки матки, плоскоклеточной карциномы ануса, карциномы из клеток Меркеля, аденокарциномы тонкой кишки или серозной карциномы яичника. В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 вводят пациенту, где каждая доза содержит от 0,1 до 20 мг/кг массы тела пациента и где каждую дозу вводят через от 0,5 до 4 недель после непосредственно предшествующей дозы. В определенных вариантах осуществления облучение представляет собой гипофракционированную лучевую терапию как раскрыто в настоящем описании.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение включает способы лечения крупных опухолей или распространенных злокачественных новообразований, способы включают введение индивиду антитела против PD-1 в комбинации с лучевой терапией и дополнительным терапевтическим средством, где дополнительное терапевтическое средство вводят для преодоления иммуносупрессии, опосредованной регуляторными T-клетками (Treg). В определенных вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство выбрано из группы, состоящей из антитела против GITR, антитела против LAG3, циклофосфида и GM-CSF.

Как используют в настоящем описании, термин "крупная опухоль" относится к размеру опухоли. Обычно он коррелирует с более высокой опухолевой нагрузкой или опухолевой массой. В определенных вариантах осуществления он коррелирует со стадией заболевания, например, распространенного злокачественного новообразования. В определенных вариантах осуществления он коррелирует с увеличенной вероятностью метастазирования.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение включает способы, включающие введение одной или нескольких доз антитела против PD-1 в комбинации с лучевой терапией и субтерапевтической дозой циклофосфида. Как используют в настоящем описании, субтерапевтическая доза циклофосфида (также обозначаемая в настоящем описании как "низкая доза циклофосфида") обозначает количество циклофосфида, которое само по себе не дает терапевтического эффекта и предпочтительно не вызывает токсичность. Образцовые дозы циклофосфида, которые считают "субтерапевтическими" в контексте настоящего изобретения, включают 100, 90, 80 мг/м<sup>2</sup> или меньше.

В одном из аспектов настоящее изобретение включает способы, включающие введение терапевтически эффективного количества антитела против PD-1 в комбинации с облучением индивиду, который находится на фоновой терапевтической схеме против злокачественной опухоли. Фоновая терапевтическая схема против злокачественной опухоли может включать курс введения, например, химиотерапевтического средства. Антитело против PD-1 в комбинации с лучевой терапией можно добавлять поверх фо-

новой терапевтической схемы против злокачественной опухоли. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 добавляют в качестве части схемы "фоновой постепенного понижения", в которой фоновую терапию против злокачественных опухолей постепенно убирают у пациента с течением времени (например, ступенчатым образом), при этом антитело против PD-1 вводят индивиду в постоянной дозе или в возрастающей дозе или в убывающей дозе с течением времени. Например, фоновая терапия против злокачественных опухолей может включать химиотерапевтическое средство, которое можно вводить в низкой дозе или в субтерапевтической дозе. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение включает способы лечения злокачественной опухоли, способы включают введение одной или нескольких доз антитела против PD-1 в комбинации с лучевой терапией и одной или нескольких доз химиотерапевтического средства, где химиотерапевтическое средство вводят в субтерапевтической дозе.

В определенных вариантах осуществления лучевую терапию вводят в первое опухолевое повреждение, но не во второе опухолевое повреждение, где введение в комбинации с антителом против PD-1 ведет к регрессу опухоли как в первом, так и во втором опухолевых повреждениях (абскопальный эффект). В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение антитела против PD-1 в комбинации с лучевой терапией для того, чтобы создавать пролонгированный абскопальный эффект.

В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против PD-1, необязательно в комбинации с лучевой терапией, где введение комбинации ведет к увеличенному ингибированию опухолевого роста. В определенных вариантах осуществления опухолевый рост ингибируют по меньшей мере приблизительно на 10%, приблизительно на 20%, приблизительно на 30%, приблизительно на 40%, приблизительно на 50%, приблизительно на 60%, приблизительно на 70% или приблизительно на 80% по сравнению с индивидом без лечения или индивидом, которому вводили или антитело или облучение в качестве монотерапии. В определенных вариантах осуществления введение антитела против PD-1 и/или лучевой терапии ведет к увеличенному регрессу опухоли, уменьшению и/или исчезновению опухоли. В определенных вариантах осуществления введение антитела против PD-1 и/или лучевой терапии ведет к задержке роста и развития опухоли, например, опухолевый рост можно задерживать приблизительно на 3 суток, больше чем на 3 суток, приблизительно на 7 суток, больше чем на 7 суток, больше чем на 15 суток, больше чем на 1 месяц, больше чем на 3 месяца, больше чем на 6 месяцев, больше чем на 1 год, больше чем на 2 года или больше чем на 3 года по сравнению с индивидом без лечения или индивидом, которого лечили антителом или облучением в качестве монотерапии. В определенных вариантах осуществления введение антитела против PD-1 в комбинации с лучевой терапией предотвращает рецидив опухоли и/или увеличивает длительность выживаемости пациента, например, увеличивает длительность выживаемости посредством больше чем на 15 суток, больше чем на 1 месяц, больше чем на 3 месяца, больше чем на 6 месяцев, больше чем на 12 месяцев, больше чем на 18 месяцев, больше чем на 24 месяца, больше чем на 36 месяцев или больше чем на 48 месяцев, чем у пациента без лечения или пациента, которому вводят антитело или облучение в качестве монотерапии. В определенных вариантах осуществления введение антитела против PD-1 в комбинации с лучевой терапией увеличивает выживаемость без прогрессирования или общую выживаемость. В определенных вариантах осуществления введение антитела против PD-1 в комбинации с лучевой терапией увеличивает ответ и длительность ответа у пациента, например, больше чем на 2%, больше чем на 3%, больше чем на 4%, больше чем на 5%, больше чем на 6%, больше чем на 7%, больше чем на 8%, больше чем на 9%, больше чем на 10%, больше чем на 20%, больше чем на 30%, больше чем на 40% или больше чем на 50% относительно пациента без лечения или пациента, который получал антитело или облучение в качестве монотерапии. В определенных вариантах осуществления введение антитела против PD-1 и/или лучевой терапии индивиду со злокачественной опухолью ведет к полному исчезновению всех признаков опухолевых клеток ("полный ответ"). В определенных вариантах осуществления введение антитела против PD-1 и/или лучевой терапии индивиду со злокачественной опухолью ведет по меньшей мере к 30% или большему уменьшению опухолевых клеток или размера опухоли ("частичный ответ"). В определенных вариантах осуществления введение антитела против PD-1 и/или лучевой терапии индивиду со злокачественной опухолью ведет к полному или частичному исчезновению опухолевых клеток/повреждений, включая новые поддающиеся измерению повреждения. Уменьшение опухоли можно измерять любым из известных в данной области способов, например, рентгеновскими лучами, позитронно-эмиссионной томографией (ПЭТ), компьютерной томографией (СТ), магнитно-резонансной визуализацией (МРТ), цитологией, гистологией или молекулярно-генетическими анализами.

В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела против PD-1, где введение антитела против PD-1 ведет к увеличенной общей выживаемости (OS) или выживаемости без прогрессирования (PFS) у пациента по сравнению с пациентом, которому вводили "стандартную" (SOC) терапию (например, химиотерапию, хирургическое вмешательство или облучение). В определенных вариантах осуществления PFS увеличивают по меньшей мере на один месяц, по меньшей мере на 2 месяца, по меньшей мере

ре на 3 месяца, по меньшей мере на 4 месяца, по меньшей мере на 5 месяцев, по меньшей мере на 6 месяцев, по меньшей мере на 7 месяцев, по меньшей мере на 8 месяцев, по меньшей мере на 9 месяцев, по меньшей мере на 10 месяцев, по меньшей мере на 11 месяцев, по меньшей мере на 1 год, по меньшей мере на 2 года или по меньшей мере на 3 года по сравнению с пациентом, которому вводили любую одну или несколько SOC терапий. В определенных вариантах осуществления OS увеличивают по меньшей мере на один месяц, по меньшей мере на 2 месяца, по меньшей мере на 3 месяца, по меньшей мере на 4 месяца, по меньшей мере на 5 месяцев, по меньшей мере на 6 месяцев, по меньшей мере на 7 месяцев, по меньшей мере на 8 месяцев, по меньшей мере на 9 месяцев, по меньшей мере на 10 месяцев, по меньшей мере на 11 месяцев, по меньшей мере на 1 год, по меньшей мере на 2 года или по меньшей мере на 3 года по сравнению с пациентом, которому вводили любую одну или несколько SOC терапий.

Настоящее изобретение также относится к наборам, содержащим антитело против PD-1 для терапевтического использования. Наборы обычно содержат этикетку, указывающую на предполагаемое использование содержимого набора, и инструкции для использования. Термин этикетка включает любой письменный или записанный материал, поставляемый на или с набором, или который иным образом сопутствует набору. Соответственно, это раскрытие предусматривает набор для лечения пациента, страдающего злокачественной опухолью, набор содержит: (а) дозу антитела или его антигенсвязывающей части, которые специфически связываются с PD-1 и ингибируют активность PD-1; и (b) инструкции для использования антитела против PD-1 в любом из способов терапии, раскрытых в настоящем описании. В определенных вариантах осуществления для лечения пациентов-людей набор содержит антитело против PD-1 человека, раскрытое в настоящем описании, например, REGN2810. В других вариантах осуществления антитело против PD-1 может представлять собой любое одно из ниволумаба, пембролизумаба или любых из антител против PD-1, раскрытых в настоящем описании. В определенных вариантах осуществления доза антитела против PD-1 находится в диапазоне от 0,1 до 10 мг/кг массы тела. В определенных вариантах осуществления доза антитела против PD-1 содержит от 50 до 600 мг.

Способы супрессии регуляторных Т-клеток.

В соответствии с определенными аспектами, настоящее изобретение предусматривает способы супрессии или ингибирования активации и/или пролиферации регуляторных Т-клеток (Treg). В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способы супрессии активности клеток Treg. Способы, в соответствии с этими аспектами, включают выбор пациента с солидной опухолью и введение индивиду антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента в комбинации с по меньшей мере одним из (i) лучевой терапии и (ii) антагониста рецептора индуцированного глюкокортикоидами фактора некроза опухоли (GITR). В определенных вариантах осуществления способы включают введение пациенту антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента в комбинации с лучевой терапией и антагонистом GITR.

В определенных вариантах осуществления антагонист GITR представляет собой антитело против GITR или его антигенсвязывающий фрагмент. В соответствии с определенными образцовыми вариантами осуществления настоящего изобретения, антитело против GITR или его антигенсвязывающий фрагмент содержат варибельную область тяжелой цепи (HCVR), варибельную область легкой цепи (LCVR) и/или определяющие комплементарность области (CDR), содержащие аминокислотные последовательности любого из антител против GITR, как изложено в USSN 62/256922 (подана 18 ноября 2015 г.), содержание которой включено в настоящее описание в полном объеме. Другие антитела против GITR, которые можно использовать в контексте способов по настоящему изобретению, включают любые из антител против GITR, как изложено, например, в патентах США № 9228016, 8709424, 8591886, 7812135 или публикации патента США № 20150368349.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способы супрессии или устранения активности Treg, способы включают введение индивиду, нуждающемуся в этом, антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента в комбинации с одной или несколькими дозами облучения и антагонистом антигена 4 цитотоксических Т-лимфоцитов (CTLA). В определенных вариантах осуществления антагонист CTLA представляет собой антитело против CTLA (например, ипилимумаб).

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способы супрессии или устранения активности Treg, способы включают введение индивиду, нуждающемуся в этом, антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента в комбинации с одной или несколькими дозами облучения и антагонистом гена активации лимфоцитов 3 (LAG-3). В определенных вариантах осуществления антагонист LAG-3 представляет собой антитело против LAG-3. Антитела против LAG-3, которые можно использовать в контексте способов по настоящему изобретению, раскрыты в USSN 15/289,032 (подана 7 октября 2016 г.), содержание которой включено в настоящее описание в полном объеме.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способы супрессии или устранения активности Treg, способы включают введение индивиду, нуждающемуся в этом, антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента в комбинации с одной или несколькими дозами облучения и циклофосфамидом.

В одном из аспектов, способы по настоящему изобретению включают введение антитела против PD-1 в комбинации с лучевой терапией и дополнительным терапевтическим средством, выбранным из группы, состоящей из антагониста G1TR, антитела против LAG-3 и циклофосфида, индивиду с солидной опухолью, где введение ведет к эффекту, выбранному из группы, состоящей из ингибирования опухолевого роста, уменьшения размера опухоли, задержки опухолевого роста, ингибирования метастазирования опухоли, уменьшения метастатических поражений с течением времени, сниженного использования химиотерапевтических или цитотоксических средств, увеличенной выживаемости, полного ответа, частичного ответа и стабильного заболевания. В определенных вариантах осуществления введение ведет к снижению опухолевой нагрузки у пациента. В определенных вариантах осуществления индивид имеет крупную опухоль. Как определено в другом месте в настоящем описании, термин "крупная опухоль" относится к размеру опухоли и коррелирует с увеличенной опухолевой нагрузкой и увеличенной вероятностью возникновения метастаза. В определенных вариантах осуществления термин относится к распространенному злокачественному новообразованию.

Антитела против PD-1 и их антигенсвязывающие фрагменты.

В соответствии с определенными образцовыми вариантами осуществления настоящего изобретения, способы включают введение терапевтически эффективного количества антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента. Термин "антитело", как используют в настоящем описании, включает молекулы иммуноглобулинов, содержащие четыре полипептидные цепи, две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные дисульфидными связями, а также их мультимеры (например, IgM). В типичном антителе каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (сокращаемую в настоящем описании как HCVR или  $V_H$ ) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит три домена,  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  и  $C_{H3}$ . Каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (сокращаемую в настоящем описании как LCVR или  $V_L$ ) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один домен ( $C_{L1}$ ). Области  $V_H$  и  $V_L$  дополнительно можно подразделять на области гипервариабельности, обозначаемые определяющими комплементарность областями (CDR), которые чередуются с областями, которые более консервативны и которые называют каркасными областями (FR). Каждая  $V_H$  и  $V_L$  состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В различных вариантах осуществления изобретения FR из антитела против IL-4R (или его антигенсвязывающей части) могут быть идентичны последовательностям зародышевой линии человека или могут быть модифицированы естественным или искусственным путем. Консенсусную аминокислотную последовательность можно определять на основе параллельного анализа двух или больше CDR.

Термин "антитело", как используют в настоящем описании, также включает антигенсвязывающие фрагменты целых молекул антител. Термины "антигенсвязывающая часть" антитела, "антигенсвязывающий фрагмент" антитела и т.п., как используют в настоящем описании, включают любой встречаемый в природе, получаемый ферментативным путем, синтетический или генетически сконструированный полипептид или гликопротеин, который специфически связывает антиген для того, чтобы формировать комплекс. Антигенсвязывающие фрагменты антитела можно извлекать, например, из целых молекул антител с использованием любых подходящих стандартных способов, таких как протеолитическое расщепление или рекомбинантные способы генетической инженерии, включая манипуляции с и экспрессию ДНК, кодирующей переменные и необязательно константные домены антитела. Такая ДНК известна и/или легко доступна, например, в коммерческих источниках, библиотеках ДНК (включая, например, фаговые библиотеки антител), или ее можно синтезировать. ДНК можно секвенировать и манипулировать ей химически или с использованием молекулярно-биологических способов, например, чтобы располагать один или несколько переменных и/или константных доменов в подходящей конфигурации или вводить кодоны, создавать остатки цистеина, модифицировать, добавлять или удалять аминокислоты и т.д.

Неограничивающие примеры антигенсвязывающих фрагментов включают: (i) фрагменты Fab; (ii) фрагменты  $F(ab')_2$ ; (iii) фрагменты Fd; (iv) фрагменты Fv; (v) молекулы одноцепочечных Fv (scFv); (vi) фрагменты dAb; и (vii) минимальные распознающие единицы, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гипервариабельную область антитела (например, выделенная определяющая комплементарность область (CDR), такая как пептид CDR3) или ограниченный пептид FR3-CDR3-FR4. Другие сконструированные молекулы, такие как домен-специфические антитела, однодоменные антитела, антитела с удаленными доменами, химерные антитела, антитела с пересаженными CDR, диатела, триатела, тетратела, миниантитела, нанотела (например, одновалентные нанотела, двухвалентные нанотела и т.д.), малые модульные иммунофармацевтические средства (SMIP) и переменные домены IgNAR акулы, также входят в выражение "антигенсвязывающий фрагмент", как используют в настоящем описании.

Антигенсвязывающий фрагмент антитела обычно содержит по меньшей мере один переменный домен. Переменный домен может быть любого размера или аминокислотного состава и в целом содержит по меньшей мере одну CDR, которая находится смежно или в рамке с одной или несколькими каркасными последовательностями. В антигенсвязывающих фрагментах, имеющих домен  $V_H$ , связанный с доменом  $V_L$ , домены  $V_H$  и  $V_L$  можно располагать друг относительно друга в любой подходящей компо-



новке. Например, вариабельная область может быть димерной и димеры содержать  $V_H-V_H$ ,  $V_H-V_L$  или  $V_L-V_L$ . Альтернативно, антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать мономерный домен  $V_H$  или  $V_L$ .

В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать по меньшей мере один вариабельный домен, ковалентно связанный с по меньшей мере одним константным доменом. Неограничивающие образцовые конфигурации вариабельных и константных доменов, которые можно найти в антигенсвязывающем фрагменте антитела по настоящему изобретению, включают: (i)  $V_H-C_{H1}$ ; (ii)  $V_H-C_{H2}$ ; (iii)  $V_H-C_{H3}$ ; (iv)  $V_H-C_{H1}-C_{H2}$ ; (v)  $V_H-C_{H1}-C_{H2}-C_{H3}$ ; (vi)  $V_H-C_{H2}-C_{H3}$ ; (vii)  $V_H-C_L$ ; (viii)  $V_L-C_{H1}$ ; (ix)  $V_L-C_{H2}$ ; (x)  $V_L-C_{H3}$ ; (xi)  $V_L-C_{H1}-C_{H2}$ ; (xii)  $V_L-C_{H1}-C_{H2}-C_{H3}$ ; (xiii)  $V_L-C_{H2}-C_{H3}$ ; и (xiv)  $V_L-C_L$ . В любой конфигурации вариабельных и константных доменов, в том числе любой из образцовых конфигураций, перечисленных выше, вариабельные и константные домены можно или непосредственно связывать друг с другом или можно связывать посредством полной или частичной шарнирной или линкерной области. Шарнирная область может состоять из по меньшей мере 2 (например, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или больше) аминокислот, которые дают гибкую или полугибкую связь между смежными вариабельными и/или константными доменами в одной полипептидной молекуле. Кроме того, антигенсвязывающий фрагмент антитела по настоящему изобретению может содержать гомодимер или гетеродимер (или другой мультимер) любой из конфигураций вариабельных и константных доменов, перечисленных выше, в нековалентной связи с одним другим и/или с одним или несколькими мономерными доменами  $V_H$  или  $V_L$  (например, посредством дисульфидной связи(ей)).

Термин "антитело", как используют в настоящем описании, также включает полиспецифические (например, биспецифические) антитела. Полиспецифическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела обычно содержит по меньшей мере два различных вариабельных домена, где каждый вариабельный домен способен специфически связываться с отдельным антигеном или с другим эпитопом на том же антигене. Любой формат полиспецифического антитела можно адаптировать для использования в контексте антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела по настоящему изобретению с использованием стандартных способов, доступных в данной области. Например, настоящее изобретение включает способы, включающие использование биспецифических антител, в которых одно плечо иммуноглобулина обладает специфичностью к PD-1 или его фрагменту, а другое плечо иммуноглобулина обладает специфичностью ко второй терапевтической мишени или конъюгировано с терапевтическим фрагментом. Образцовые биспецифические форматы, которые можно использовать в контексте настоящего изобретения, включают, без ограничения, например, основанные на scFv форматы или биспецифические форматы диател, слитые IgG-scFv, Ig с двойным вариабельным доменом (DVD), квадромы, выступы-во-впадины, общую легкую цепь (например, общую легкую цепь с выступами-во-впадинах и т.д.), CrossMab, CrossFab, (SEED)body, лейциновую молнию, Duobody, IgG1/IgG2, IgG с Fab двойного действия (DAF) и биспецифические форматы Mab2 (обзор вышеуказанных форматов см., например, в Klein et al. 2012, mAbs 4:6, 1-11 и цитируемых в там ссылках). Биспецифические антитела также можно сконструировать с использованием конъюгации пептидов/нуклеиновых кислот, например, где естественные аминокислоты с ортогональной химической реакционной способностью используют для того, чтобы создавать конъюгаты сайт-специфических антител и олигонуклеотидов, которые затем самоорганизуются в мультимерные комплексы определенной композиции, валентности и геометрии (см., например, Kazane et al., J. Am. Chem. Soc. [Epub: Dec. 4, 2012]).

Антитела, используемые в способах по настоящему изобретению, могут представлять собой антитела человека. Предусмотрено, что термин "антитело человека", как используют в настоящем описании, включает антитела, имеющие вариабельные и константные области, полученные из последовательностей иммуноглобулинов человека эмбрионального типа. Антитела человека по изобретению, тем не менее, могут содержать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулинов человека эмбрионального типа (например, мутации, введенные с помощью случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или соматических мутаций *in vivo*), например, в CDR и, в частности, CDR3. Однако не предусмотрено, что термин "антитело человека", как используют в настоящем описании, включает антитела, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии млекопитающих других биологических видов, таких как мышь, пересажены в каркасные последовательности человека.

Антитела, используемые в способах по настоящему изобретению, могут представлять собой рекомбинантные антитела человека. Предусмотрено, что термин "рекомбинантное антитело человека", как используют в настоящем описании, включает все антитела человека, которые получают, экспрессируют, создают или выделяют рекомбинантными средствами, например, антитела, экспрессируемые с использованием рекомбинантного экспрессирующего вектора, перенесенного в клетку-хозяина (дополнительно описано далее), антитела, выделенные из библиотек рекомбинантных комбинированных антител человека (дополнительно описано далее), антитела, выделенные у животного (например, мыши), которые являются трансгенными по генам иммуноглобулинов человека [см., например, Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295], или антитела, получаемые, экспрессируемые, создаваемые или выделяемые с помощью любых других средств, которые включают сплайсинг последовательностей генов иммуноглобули-

нов человека с другими ДНК последовательностями. Такие рекомбинантные антитела человека имеют переменные и константные области, полученные из последовательностей иммуноглобулинов человека эмбрионального типа. Однако в определенных вариантах осуществления такие рекомбинантные антитела человека подвергают мутагенезу *in vitro* (или, когда используют животное, трансгенное по последовательностям Ig человека, соматическому мутагенезу *in vivo*) и, таким образом, аминокислотные последовательности областей  $V_H$  и  $V_L$  рекомбинантных антител представляют собой последовательности, которые, хотя и получают из последовательностей  $V_H$  и  $V_L$  зародышевой линии человека и родственны им, могут не существовать в природе в репертуаре зародышевой линии антител человека *in vivo*.

В соответствии с определенными вариантами осуществления, антитела, используемые в способах по настоящему изобретению, специфически связываются с PD-1. Термин "специфически связывают" или тому подобное обозначает, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент образует комплекс с антигеном, который относительно стабилен при физиологических условиях. Способы определения того, специфически ли антитело связывается с антигеном, хорошо известны в данной области и включают, например, равновесный диализ, поверхностный плазмонный резонанс и т.п. Например, антитело, которое "специфически связывает" PD-1, как используют в контексте настоящего изобретения, включает антитело, которые связываются с PD-1 или его часть с  $K_D$  меньше чем приблизительно 500 нМ, меньше чем приблизительно 300 нМ, меньше чем приблизительно 200 нМ, меньше чем приблизительно 100 нМ, меньше чем приблизительно 90 нМ, меньше чем приблизительно 80 нМ, меньше чем приблизительно 70 нМ, меньше чем приблизительно 60 нМ, меньше чем приблизительно 50 нМ, меньше чем приблизительно 40 нМ, меньше чем приблизительно 30 нМ, меньше чем приблизительно 20 нМ, меньше чем приблизительно 10 нМ, меньше чем приблизительно 5 нМ, меньше чем приблизительно 4 нМ, меньше чем приблизительно 3 нМ, меньше чем приблизительно 2 нМ, меньше чем приблизительно 1 нМ или меньше чем приблизительно 0,5 нМ, как измеряют в анализе поверхностного плазмонного резонанса. Однако выделенное антитело, которое специфически связывает PD-1 человека, может обладать перекрестной реактивностью с другими антигенами, такими как молекулы PD-1 от других биологических видов (не относящихся к человеку).

В соответствии с определенными образцовыми вариантами осуществления настоящего изобретения, антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), переменную область легкой цепи (LCVR) и/или определяющие комплементарность области (CDR), содержащие аминокислотные последовательности любого из антител против PD-1, как изложено в публикации патента США № 20150203579, настоящим включенной в полном объеме. В определенных образцовых вариантах осуществления, антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент, которые можно использовать в контексте способов по настоящему изобретению, содержат определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) из переменной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR) из переменной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2. В соответствии с определенными вариантами осуществления, антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит три HCDR (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) и три LCDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), где HCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; HCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; HCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; LCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8. В других вариантах осуществления антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HCVR, содержащую SEQ ID NO: 1, и LCVR, содержащую SEQ ID NO: 2. В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают использование антитела против PD-1, где антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10. Образцовое антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, представляет собой антитело против PD-1 полностью человека, известное как REGN2810 и также известное как эмплюмаб. В соответствии с определенными образцовыми вариантами осуществления, способы по настоящему изобретению включают использование REGN2810 или его биоэквивалента. Термин "биоэквивалент", как используют в настоящем описании, относится к антителам против PD-1 или PD-1-связывающим белкам или их фрагментам, которые являются фармацевтическими эквивалентами или фармацевтическими альтернативами, у которых скорость и/или степень абсорбции не показывает значимых различий с таковыми у REGN2810 при введение в той же молярной дозе в схожих экспериментальных условиях, однократной дозой или несколькими дозами. В контексте изобретения термин относится к антигенсвязывающим белкам, которые связываются с PD-1, которые не имеют клинически значимых различий с REGN2810 в отношении их безопасности, чистоты и/или активности.

В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения, средство против PD-1 человека или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HCVR, которая на 90%, 95%,

98% или 99% идентична последовательности SEQ ID NO: 1.

В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения, средство против PD-1 человека или его антигенсвязывающий фрагмент содержит LCVR, которая на 90%, 95%, 98% или 99% идентична последовательности SEQ ID NO: 2.

В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения, средство против PD-1 человека или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, которая имеет не больше чем 5 замен аминокислот. В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения, средство против PD-1 человека или его антигенсвязывающий фрагмент содержит LCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, которая имеет не больше чем 2 замены аминокислот.

Идентичность последовательностей можно измерять любым известным в данной области способом (например, GAP, BESTFIT и BLAST).

Настоящее изобретение также относится к использованию антител против PD-1 в способах лечения злокачественной опухоли, где антитела против PD-1 содержат варианты любых из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в настоящем описании, которые имеют одну или несколько консервативных аминокислотных замен. Например, настоящее изобретение включает использование антител против PD-1, имеющих аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR, например, с 10 или меньше, 8 или меньше, 6 или меньше, 4 или меньше и т.д. консервативными аминокислотными заменами относительно любых из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в настоящем описании.

Другие антитела против PD-1, которые можно использовать в контексте способов по настоящему изобретению, включают, например, антитела, обозначаемые и известные в данной области как ниволумаб (патент США № 8008449), пембролизумаб (патент США № 8354509), MEDI0608 (патент США № 8609089), пидилизумаб (патент США № 8686119) или любые из антител против PD-1, как изложено в патентах США № 6808710, 7488802, 8168757, 8354509, 8779105 или 8900587.

Антитела против PD-1, используемые в контексте способов по настоящему изобретению, могут иметь характеристики связывания, зависящие от pH. Например, антитело против PD-1 для использования в способах по настоящему изобретению может демонстрировать сниженное связывание с PD-1 при кислом pH по сравнению с нейтральным pH. Альтернативно, антитело против PD-1 по изобретению может демонстрировать усиленное связывание со своим антигеном при кислом pH по сравнению с нейтральным pH. Выражение "кислый pH" включает значения pH меньше приблизительно 6,2, например, приблизительно 6,0, 5,95, 5,9, 5,85, 5,8, 5,75, 5,7, 5,65, 5,6, 5,55, 5,5, 5,45, 5,4, 5,35, 5,3, 5,25, 5,2, 5,15, 5,1, 5,05, 5,0 или меньше. Как используют в настоящем описании, выражение "нейтральный pH" обозначает pH приблизительно от 7,0 приблизительно до 7,4. Выражение "нейтральный pH" включает значения pH приблизительно 7,0, 7,05, 7,1, 7,15, 7,2, 7,25, 7,3, 7,35 и 7,4.

В определенных случаях "сниженное связывание с PD-1 при кислом pH по сравнению с нейтральным pH" выражают в единицах соотношения значения  $K_D$  связывания антитела с PD-1 при кислом pH и значения  $K_D$  связывания антитела с PD-1 при нейтральном pH (или наоборот). Например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент можно рассматривать в качестве проявляющего "сниженное связывание с PD-1 при кислом pH по сравнению с нейтральным pH" для целей настоящего изобретения, если антитело или его антигенсвязывающий фрагмент проявляет соотношение кислой/нейтральной  $K_D$  приблизительно 3,0 или более. В определенных образцовых вариантах осуществления соотношение кислой/нейтральной  $K_D$  для антитела или антигенсвязывающего фрагмента по настоящему изобретению может составлять приблизительно 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5, 9,0, 9,5, 10,0, 10,5, 11,0, 11,5, 12,0, 12,5, 13,0, 13,5, 14,0, 14,5, 15,0, 20,0, 25,0, 30,0, 40,0, 50,0, 60,0, 70,0, 100,0 или более.

Антитела с pH-зависимыми характеристиками связывания можно получать, например, посредством скрининга популяции антител на сниженное (или усиленное) связывание с конкретным антигеном при кислом pH по сравнению с нейтральным pH. Дополнительно, модификации антигенсвязывающего домена на аминокислотном уровне могут давать антитела с pH-зависимыми характеристиками. Например, посредством замены одной или нескольких аминокислот антигенсвязывающего домена (например, в CDR) на остаток гистидина, можно получать антитело со сниженным связыванием антигена при кислом pH относительно нейтрального pH. Как используют в настоящем описании, выражение "кислый pH" обозначает pH 6,0 или меньше.

Комбинированная терапия.

Способы по настоящему изобретению, в соответствии с определенными вариантами осуществления, включают введение индивиду терапевтически эффективного количества антитела против PD-1. В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение лучевой терапии в комбинации с антителом против PD-1 для аддитивной или синергической активности, чтобы лечить злокачественную опухоль. Как используют в настоящем описании, выражение "в комбинации с" обозначает, что лучевую терапию вводят до, после или параллельно с антителом против PD-1. Термин "в комбинации с" также включает последовательное или сопутствующее введение антитела против PD-1 и лучевой терапии. Например, при введении "до" лучевой терапии, антитело против PD-1 можно вводить

больше чем за 150 ч, приблизительно за 150 ч, приблизительно за 100 ч, приблизительно за 72 ч, приблизительно за 60 ч, приблизительно за 48 ч, приблизительно за 36 ч, приблизительно за 24 ч, приблизительно за 12 ч, приблизительно за 10 ч, приблизительно за 8 ч, приблизительно за 6 ч, приблизительно за 4 ч, приблизительно за 2 ч, приблизительно за 1 ч или приблизительно за 30 мин, приблизительно за 15 мин или приблизительно за 10 мин до проведения лучевой терапии. При введении "после" лучевой терапии, антитело против PD-1 можно вводить приблизительно через 10 мин, приблизительно через 15 мин, приблизительно через 30 мин, приблизительно через 1 ч, приблизительно через 2 ч, приблизительно через 4 ч, приблизительно через 6 ч, приблизительно через 8 ч, приблизительно через 10 ч, приблизительно через 12 ч, приблизительно через 24 ч, приблизительно через 36 ч, приблизительно через 48 ч, приблизительно через 60 ч, приблизительно через 72 ч или больше чем через 72 ч после проведения лучевой терапии. Введение "параллельно" с лучевой терапией обозначает, что антитело против PD-1 вводят индивиду в пределах меньше чем 10 мин (до, после или одновременно) от проведения лучевой терапии.

В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение дополнительного терапевтического средства, где дополнительное терапевтическое средство представляет собой лекарственное средство против злокачественной опухоли. Как используют в настоящем описании, "лекарственное средство против злокачественной опухоли" обозначает любое средство, которое можно использовать для того, чтобы лечить злокачественную опухоль, включая в качестве неограничивающих примеров цитотоксины и такие средства, как антиметаболиты, алкилирующие средства, антрациклины, антибиотики, антимиотические средства, прокарбазин, гидроксимочевина, аспарагиназа, кортикостероиды, митотан (O,P'-(DDD)), биологические средства (например, антитела и интерфероны) и радиоактивные средства. Как используют в настоящем описании, "цитотоксин или цитотоксическое средство" также относится к химиотерапевтическому средству и обозначает любое средство, которое вредно для клеток. Примеры включают, но не ограничиваясь этим, Таксол® (паклитаксел), темозоламид, цитохалазин В, грамицидин D, бромистый этидий, эметин, цисплатин, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, доксорубицин, даунорубицин, дигидроксиантрацидин, митоксантрон, митрамицин, актиномицин D, 1-дегидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол и пурамицин и их аналоги или гомологи.

В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение дополнительного терапевтического средства или терапевтической схемы или процедуры, выбранных из группы, состоящей из хирургического вмешательства, облучения, ингибитора лиганда запрограммированной смерти 1 (PD-L1) (например, антитела против PD-L1, как раскрыто в публикации патента США 2015/0203580, или атезолизумаба), ингибитора гена активации лимфоцитов 3 (LAG-3) (например, антитела против LAG-3), ингибитора белка 4, ассоциированного с цитотоксическими Т-лимфоцитами (CTLA-4) (например, ипилимумаба), ингибитора рецептора индуцированного глюкокортикоидами фактора некроза опухоли (GITR) (например, антитела против GITR), ингибитора, содержащего Т-клеточный иммуноглобулин и муцин-3 (TIM3), ингибитора В- и Т-лимфоцитарного аттенюатора (BTLA), ингибитора Т-клеточного иммунорецептора с доменами Ig и ITIM (TIGIT), ингибитора CD47, антагониста другого Т-клеточного коингибитора или лиганда (например, антитела к CD-28, 2B4, LY108, LAIR1, ICOS, CD160 или VISTA), ингибитора CD20 (например, антитела против CD20 или биспецифического CD3/CD20 антитела), ингибитора индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO), антагониста фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [например, "VEGF-Трап", такого как афлиберцепт или другой VEGF-ингибирующий слитый белок, как изложено в US 7087411, или антитела против VEGF или его антигенсвязывающего фрагмента (например, бевацизумаба или ранибизумаба) или низкомолекулярного ингибитора киназы рецептора VEGF (например, сунитиниба, сорафениба или пазопаниба)], ингибитора ангиопоэтина 2 (Ang2) (например, несвакумаба), ингибитора трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF $\beta$ ), ингибитора CD38, ингибитора рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) (например, эрлотиниба, цетуксимаба), агониста костимулирующего рецептора (например, агониста индуцируемого глюкокортикоидами белка, родственного TNFR), антитела к опухолеспецифическому антигену [например, CA9, CA125, ассоциированному с меланомой антигену 3 (MAGE3), эмбриональному опухолевому антигену (CEA), виментин, M2-ПК опухолей, специфическому антигену предстательной железы (PSA), муцину-1, MART-1 и CA19-9], вакцины (например, бактерии Кальметта-Герена, вакцины против злокачественной опухоли), циклофосфамида, адьюванта для усиления презентирования антигена (например, гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора), цитотоксина, химиотерапевтического средства (например, дакарбазина, темозоломида, доцетаксела, доксорубицина, даунорубицина, цисплатина, карбоплатина, гемцитабина, метотрексата, митоксантрона, оксалиплатина, паклитаксела и винкристина), ингибитора рецептора интерлейкина-6 (IL-6R) (например, сарилумаба), ингибитора IL-4R (например, дупилумаба), ингибитора IL-10, цитокина, такого как IL-2, IL-7, IL-21 и IL-15, конъюгата антитело-лекарственное средство (ADC) (например, средств против CD19-DM4 ADC и против DS6-DM4 ADC), Т-клеток с химерным антигенным рецептором (например, Т-клеток, направленных на CD19), противовоспалительного лекарственного средства (например, кортикостероидов и нестероидных противовоспалительных лекарственных средств) и пищевой добавки, такой как антиоксиданты.

В определенных вариантах осуществления способы по изобретению включают введение антитела против PD-1 в комбинации с лучевой терапией и необязательно антитела против GITR для того, чтобы создавать долгосрочные устойчивые противоопухолевые ответы и/или усиливать выживаемость пациентов со злокачественной опухолью. В некоторых вариантах осуществления способы по изобретению включают введение лучевой терапии до, сопутствующе или после введения антитела против PD-1 и антитела против GITR пациенту со злокачественной опухолью. Например, лучевую терапию можно вводить одной или несколькими дозами в опухолевые повреждения после введения одной или нескольких доз антител. В некоторых вариантах осуществления лучевую терапию можно вводить локально в опухолевое повреждение, чтобы усиливать локальную иммуногенность опухоли пациента (вспомогательное облучение) и/или убивать опухолевые клетки (абляционное облучение) после системного введения антитела против PD-1 и/или антитела против GITR. В определенных вариантах осуществления лучевую терапию вводят в первое опухолевое повреждение, но не во второе опухолевое повреждение, где введение в комбинации с антителом против PD-1 ведет к регрессу опухоли как в первом, так и во втором опухолевых повреждениях (абскопальный эффект). В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение антитела против PD-1 в комбинации с лучевой терапией и необязательно антитела против GITR для того, чтобы создавать пролонгированный абскопальный эффект.

В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 можно вводить в комбинации с лучевой терапией и химиотерапевтическим средством (например, темозоломидом или циклофосфамидом), антагонистом VEGF (например, афлиберцептом) или гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором.

Фармацевтические композиции и введение.

Настоящее изобретение включает способы, которые включают введение антитела против PD-1 в комбинации с облучением индивиду, где антитело против PD-1 входит в фармацевтическую композицию. Фармацевтические композиции по изобретению можно формулировать с подходящими носителями, эксципиентами и другими средствами, которые обеспечивают подходящий перенос, доставку, переносимость и т.п. Множество подходящих составов можно найти в фармакологическом справочнике, известном всем фармацевтическим химикам: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Эти составы включают, например, порошки, пасты, мази, желе, воски, масла, липиды, липидосодержащие (катионные или анионные) везикулы (такие как LIPOFECTIN™), конъюгаты ДНК, безводные абсорбционные пасты, эмульсии "масло-в-воде" и "вода-в-масле", эмульсии Carbowax (полиэтиленгликоли различных молекулярных масс), полутвердые гели и полутвердые смеси, содержащие Carbowax. См. также Powell et al. " Compendium of excipients for parenteral formulations " PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

Известны различные системы доставки, которые можно использовать для того, чтобы вводить фармацевтическую композицию по изобретению, например, инкапсулирование в липосомы, микрочастицы, микрокапсулы, рекомбинантные клетки, способные экспрессировать мутантные вирусы, рецепторно-опосредованный эндоцитоз (см., например, Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262: 4429-4432). Способы введения включают, но не ограничиваясь этим, внутрикожный, внутримышечный, интраперитонеальный, внутривенный, подкожный, интраназальный, эпидуральный и оральный пути. Композиции можно вводить с помощью любого удобного пути, например, посредством инфузии или инъекции болюса, посредством абсорбции через эпителиальные или кожно-слизистые оболочки (например, слизистая рта, ректальная и кишечная слизистая и т.д.), и можно вводить вместе с другими биологически активными средствами.

Фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно доставлять подкожно или внутривенно с использованием стандартной иглы и шприца. Кроме того, в отношении подкожной доставки, устройство доставки в виде ручки без труда находит применение для доставки фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Такое устройство доставки в виде ручки может быть повторно используемым или одноразовым. В повторно используемом устройстве доставки в виде ручки обычно используют заменяемый картридж, который содержит фармацевтическую композицию. Когда вся фармацевтическая композиция в картридже введена и картридж пуст, пустой картридж можно без труда удалять и заменять на новый картридж, который содержит фармацевтическую композицию. Затем устройство доставки в виде ручки затем можно повторно использовать. В одноразовом устройстве доставки в виде ручки нет заменяемого картриджа. Наоборот, одноразовое устройство доставки в виде ручки поступает предварительно заполненным фармацевтической композицией, находящейся в резервуаре внутри устройства. Когда резервуар фармацевтической композиции пуст, устройство целиком выбрасывают.

В определенных ситуациях фармацевтическую композицию можно доставлять в системах с контролируемым высвобождением. В одном из вариантов осуществления можно использовать насос. В другом варианте осуществления можно использовать полимерные материалы; см. Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (ред.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida. В еще одном другом варианте осуществления систему с контролируемым высвобождением можно помещать вблизи от мишени композиции, что, таким образом, требует только доли от системной дозы (см., например, Goodson, 1984, в Med-

ical Applications of Controlled Release, выше, том 2, стр. 115-138). Другие системы с контролируемым высвобождением рассмотрены в обзоре Langer, 1990, Science 249:1527-1533.

Инъецируемые препараты могут включать дозированные формы для внутривенных, подкожных, внутрикожных и внутримышечных инъекций, капельных инфузий и т.д. Эти инъецируемые препараты можно получать известными способами. Например, инъецируемые препараты можно получать посредством растворения, суспендирования или эмульсификации антитела или его соли, описанных выше, в стерильной водной среде или в масляной среде, стандартно используемых для инъекций. В качестве водной среды для инъекций существуют, например, физиологический солевой раствор, изотонический раствор, содержащий глюкозу и другие вспомогательные средства, и т.д., которые можно использовать в комбинации с подходящим солюбилизирующим средством, таким как спирт (например, этанол), многоатомный спирт (например, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль), неионное поверхностно-активное средство [например, полисорбат 80, HCO-50 (полиоксэтиленовый (50 моль) аддукт гидрогенизированного касторового масла)] и т.д. В качестве масляной среды используют, например, сезамовое масло, соевое масло и т.д., которые можно использовать в комбинации с солюбилизирующим средством, таким как бензилбензоат, бензиловый спирт и т.д. Инъекцией, полученной таким образом, предпочтительно заполняют подходящую ампулу.

Благоприятно, фармацевтические композиции для орального или парентерального использования, которые описаны выше, получают в дозированных формах в стандартной дозе, подобранной так, чтобы соответствовать дозе активных ингредиентов. Такие дозированные формы в стандартной дозе включают, например, таблетки, пилюли, капсулы, инъекции (ампулы), суппозитории и т.д.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает фармацевтический состав, содержащий терапевтическое количество антитела против PD-1 и фармацевтический носитель. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает антитело против PD-1, сформулированное в фармацевтической композиции для использования при внутривенном введении.

#### Схемы введения.

Настоящее изобретение включает способы, включающие введение индивиду антитела против PD-1 с частотой дозирования приблизительно четыре раза в неделю, два раза в неделю, раз в неделю, раз в 2 недели, раз в 3 недели, раз в 4 недели, раз в 5 недель, раз в 6 недель, раз в 8 недель, раз в 12 недель или менее часто, при условии, что достигают терапевтического ответа. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение включает способы, включающие введение индивиду лучевой терапии с частотой дозирования приблизительно семь раз в неделю, приблизительно четыре раза в неделю, два раза в неделю, раз в неделю, раз в 2 недели, раз в 3 недели, раз в 4 недели, раз в 5 недель, раз в 6 недель, раз в 8 недель, раз в 12 недель или менее часто, при условии, что достигают терапевтического ответа. В определенных вариантах осуществления способы включают введение антитела против PD-1 в комбинации с лучевой терапией при частоте дозирования приблизительно семь раз в неделю, приблизительно четыре раза в неделю, два раза в неделю, раз в неделю, раз в 2 недели, раз в 3 недели, раз в 4 недели, раз в 5 недель, раз в 6 недель, раз в 8 недель, раз в 9 недель, раз в 12 недель или менее часто, при условии, что достигают терапевтического ответа.

В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение лучевой терапии, где лучевая терапия представляет собой гипофракционированную лучевую терапию. В определенных вариантах осуществления гипофракционированная лучевая терапия содержит 2-12 фракций. В определенных вариантах осуществления 2-12 фракций вводят в последовательные сутки. В определенных вариантах осуществления лучевую терапию вводят после введения одной или нескольких доз антитела против PD-1. В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 вводят за 0,5-2 недели до введения одной или нескольких фракций лучевой терапии.

В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения несколько доз антитела против PD-1 в комбинации с лучевой терапией можно вводить индивиду в течение определенного периода времени. Способы в соответствии с этим аспектом изобретения включают последовательное введение индивиду одной или нескольких доз антитела против PD-1 в комбинации с одной или несколькими дозами облучения. Как используют в настоящем описании, "последовательное введение" обозначает, что каждую дозу антитела вводят индивиду в отличающийся момент времени, например, в различные сутки, разделенные предварительно определяемым интервалом (например, часы, сутки, недели или месяцы). В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают последовательное введение одной или нескольких доз антитела против PD-1, где каждую дозу вводят через 0,5-12 недель после непосредственно предшествующей дозы. В определенных дополнительных вариантах осуществления, способы дополнительно включают введение лучевой терапии. Лучевая терапия может представлять собой гипофракционированную лучевую терапию. В определенных вариантах осуществления лучевая терапия содержит 2-12 фракций. В некоторых вариантах осуществления фракции облучения вводят в последовательные сутки или через сутки. В определенных вариантах осуществления фракции облучения вводят раз в 3 суток, раз в 4 суток, раз в 5 суток, раз в 6 суток, раз в 7 суток или их сочетание.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение включает способы, которые включают последовательное введение пациенту одной начальной дозы антитела против PD-1, после чего следует одна или несколько вторых доз антитела против PD-1 и необязательно после чего следует одна или несколько третьих доз антитела против PD-1. В определенных вариантах осуществления способы дополнительно включают последовательное введение пациенту одной начальной дозы лучевой терапии, после чего следует одна или несколько вторых доз лучевой терапии и необязательно после чего следует одна или несколько третьих доз лучевой терапии. В альтернативных вариантах осуществления способы дополнительно включают последовательное введение одной или нескольких фракций гипофракционированной лучевой терапии.

В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения, несколько доз антитела против PD-1 и лучевую терапию можно вводить индивиду в течение определенного периода времени. Способы в соответствии с этим аспектом изобретения включают последовательное введение индивиду нескольких доз антитела против PD-1 и облучения. Как используют в настоящем описании, "последовательное введение" обозначает, что каждую дозу антитела против PD-1 в комбинации с лучевой терапией вводят индивиду в отличающийся момент времени, например, в различные сутки, разделенные предварительно определяемым интервалом (например, часы, сутки, недели или месяцы).

Термины "начальная доза", "вторые дозы" и "третьи дозы" относятся ко временной последовательности введения. Таким образом, "начальная доза" представляет собой дозу, которую вводят в начале схемы лечения (также обозначают как "базовая доза"); "вторые дозы" представляют собой дозы, которые вводят после начальной дозы; и "третьи дозы" представляют собой дозы, которые вводят после вторых доз. Все из начальной, вторых и третьих доз могут содержать одно и то же количество антитела (антитела против PD-1). Однако в определенных вариантах осуществления количество, входящее в начальную, вторые и/или третьи дозы варьирует между собой (например, его корректируют вверх или вниз в зависимости от ситуации) во время хода лечения. В определенных вариантах осуществления одну или несколько (например, 1, 2, 3, 4 или 5) доз вводят в начале схемы лечения в качестве "загрузочных доз", после чего следуют последующие дозы, которые вводят на менее частой основе (например, "поддерживающие дозы"). Например, антитело против PD-1 можно вводить пациенту со злокачественной опухолью в загрузочной дозе приблизительно 1-3 мг/кг, после чего следует одна или несколько поддерживающих доз приблизительно от 0,1 приблизительно до 20 мг/кг массы тела пациента.

В одном образцовом варианте осуществления настоящего изобретения каждую вторую и/или третичную дозу вводят через 0,5-14 (например, 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 10,5, 11, 11,5, 12, 12,5, 13, 13,5, 14, 14,5 или больше) недель после непосредственно предшествующей дозы. Фраза "непосредственно предшествующая доза", как используют в настоящем описании, обозначает, в последовательности из нескольких введений, дозу антитела против PD-1 (и/или облучение), которую вводят пациенту перед введением ближайшей следующей дозы в последовательности без промежуточных доз.

Способы в соответствии с настоящим аспектом изобретения могут включать введение пациенту любого числа вторых и/или третьих доз антитела против PD-1 (и/или лучевой терапии). Например, в определенных вариантах осуществления пациенту вводят только одну вторую дозу. В других вариантах осуществления пациенту вводят две или больше (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или больше) вторых доз. Аналогичным образом, в определенных вариантах осуществления пациенту вводят только одну третичную дозу. В других вариантах осуществления пациенту вводят две или больше (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или больше) третьих доз.

В вариантах осуществления, включающих несколько вторых доз, каждую вторую дозу можно вводить с той же частотой, что и другие вторые дозы. Например, каждую вторую дозу можно вводить пациенту через 1-2 недели после непосредственно предшествующей дозы. Аналогичным образом, в вариантах осуществления, включающих несколько третьих доз, каждую третичную дозу можно вводить с той же частотой, что и другие третьи дозы. Например, каждую третичную дозу можно вводить пациенту через 2-4 недели после непосредственно предшествующей дозы. Альтернативно, частота, с которой вторые и/или третьи дозы вводят пациенту, может варьировать в ходе схемы лечения. Частоту введения также может корректировать во время хода лечения посредством врач, в зависимости от потребностей индивидуального пациента, после клинического обследования.

В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 и/или облучение вводят в начале схемы лечения в виде "индукционных доз" на более частой основе (два раза в неделю, раз в неделю или раз в 2 недели), после чего следуют последующие дозы ("консолидационные дозы" или "поддерживающие дозы"), которые вводят на менее частой основе (например, раз в 2-12 недель). В определенных вариантах осуществления одну или несколько доз антитела против PD-1 и/или облучение вводят в начале схемы лечения в качестве "индукционных доз" на более частой основе (два раза в неделю, раз в неделю или раз в 2 недели), после чего следуют последующие дозы антитела против PD-1.

Настоящее изобретение включает способы, которые включают последовательное введение одной или нескольких доз антитела против PD-1 в комбинации с одной или несколькими дозами лучевой тера-

пии, где одна или несколько доз входят в один или несколько циклов лечения.

В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения способы включают введение по меньшей мере одного цикла лечения, где по меньшей мере один цикл лечения включает введение одной или нескольких доз антитела против PD-1 и необязательно одной или нескольких доз лучевой терапии. В определенных вариантах осуществления цикл лечения включает 1-10 доз антитела против PD-1, где каждую дозу антитела против PD-1 вводят через 0,5-8 недель после непосредственно предшествующей дозы. В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение вплоть до 6 или 8 циклов лечения. В определенных других вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение вплоть до 12 циклов лечения или больше, при необходимости, для терапевтического эффекта. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере один цикл лечения дополнительно содержит лучевую терапию. В некоторых вариантах осуществления лучевая терапия представляет собой гипофракционированную лучевую терапию, где гипофракционированная лучевая терапия содержит 2-12 фракций. В определенных вариантах осуществления 2-12 фракций вводят в последовательные сутки.

Настоящее изобретение включает способы, включающие последовательное введение антитела против PD-1 в комбинации с лучевой терапией пациенту для того, чтобы лечить злокачественную опухоль (например, солидную опухоль). В некоторых вариантах осуществления данные способы включают введение одной или нескольких доз антитела против PD-1, после чего следует лучевая терапия. В определенных дополнительных вариантах осуществления лучевую терапию вводят фракциями (гипофракционированное облучение). В определенных вариантах осуществления данные способы включают введение однократной дозы антитела против PD-1, после чего следует 2-10 фракций лучевой терапии, после чего следует одна или несколько доз антитела против PD-1. В некоторых вариантах осуществления можно вводить одну или несколько доз приблизительно от 0,1 мг/кг приблизительно до 20 мг/кг антитела против PD-1, после чего следует лучевая терапия для того, чтобы ингибировать опухолевый рост и/или предотвращать рецидив опухоли у пациента со злокачественной опухолью (например, солидной опухолью). В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 вводят одной или несколькими дозами, после чего следует лучевая терапия, ведущая к увеличенному противоопухолевому эффекту (например, более выраженному ингибированию опухолевого роста, увеличенному предотвращению рецидива опухоли по сравнению с индивидом без лечения или индивидом, которому вводили антитело или облучение в качестве монотерапии). Альтернативные варианты осуществления изобретения относятся к сопутствующему введению антитела против PD-1 и облучения, которые вводят со схожей или отличающейся частотой относительно антитела против PD-1. В некоторых вариантах осуществления лучевую терапию вводят до, после или одновременно с антителом против PD-1.

#### Доза.

Количество антитела против PD-1, вводимого индивиду в соответствии со способами по настоящему изобретению, в целом представляет собой терапевтически эффективное количество. Как используют в настоящем описании, фраза "терапевтически эффективное количество" обозначает количество антитела (антитела против PD-1, которое ведет к одному или нескольким из: (a) снижения тяжести или длительности симптома или показания, относящегося ко злокачественной опухоли, например, солидной опухоли; (b) ингибирования опухолевого роста или увеличения некроза опухоли, уменьшения опухоли и/или исчезновения опухоли; (c) задержки роста и развития опухоли; (d) ингибирования метастазирования опухоли; (e) предотвращения рецидива опухолевого роста; (f) увеличения выживаемости пациента со злокачественной опухолью; и/или (g) уменьшения использования или необходимости стандартной терапии против злокачественных опухолей (например, сниженное использование химиотерапевтических или цитотоксических средств или отказ от них) по сравнению с индивидом без лечения или индивидом, которому вводили антитело в качестве монотерапии.

В случае антитела против PD-1, терапевтически эффективное количество может составлять приблизительно от 0,05 мг приблизительно до 600 мг, приблизительно от 1 мг приблизительно до 500 мг, приблизительно от 10 мг приблизительно до 450 мг, приблизительно от 50 мг приблизительно до 400 мг, приблизительно от 75 мг приблизительно до 350 мг или приблизительно от 100 мг приблизительно до 300 мг антитела. Например, в различных вариантах осуществления, количество антитела против PD-1 составляет приблизительно 0,05 мг, приблизительно 0,1 мг, приблизительно 1,0 мг, приблизительно 1,5 мг, приблизительно 2,0 мг, приблизительно 10 мг, приблизительно 20 мг, приблизительно 30 мг, приблизительно 40 мг, приблизительно 50 мг, приблизительно 60 мг, приблизительно 70 мг, приблизительно 80 мг, приблизительно 90 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 110 мг, приблизительно 120 мг, приблизительно 130 мг, приблизительно 140 мг, приблизительно 150 мг, приблизительно 160 мг, приблизительно 170 мг, приблизительно 180 мг, приблизительно 190 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 210 мг, приблизительно 220 мг, приблизительно 230 мг, приблизительно 240 мг, приблизительно 250 мг, приблизительно 260 мг, приблизительно 270 мг, приблизительно 280 мг, приблизительно 290 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 310 мг, приблизительно 320 мг, приблизительно 330 мг, приблизительно 340 мг, приблизительно 350 мг, приблизительно 360 мг, приблизительно 370 мг, приблизительно 380 мг, приблизительно 390 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 410 мг, приблизительно 420 мг,



приблизительно 430 мг, приблизительно 440 мг, приблизительно 450 мг, приблизительно 460 мг, приблизительно 470 мг, приблизительно 480 мг, приблизительно 490 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 510 мг, приблизительно 520 мг, приблизительно 530 мг, приблизительно 540 мг, приблизительно 550 мг, приблизительно 560 мг, приблизительно 570 мг, приблизительно 580 мг, приблизительно 590 мг, или приблизительно 600 мг антитела против PD-1. В одном из вариантов осуществления 250 мг антитела против PD-1 вводят в соответствии со способами по настоящему изобретению. В одном из вариантов осуществления 200 мг антитела против PD-1 вводят в соответствии со способами по настоящему изобретению. В одном из вариантов осуществления 350 мг антитела против PD-1 вводят в соответствии со способами по настоящему изобретению.

Количество любого антитела против PD-1, входящее в индивидуальные дозы, можно выражать в единицах мг антитела на кг массы тела пациента (т.е. мг/кг). В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1, используемое в способах по настоящему изобретению, можно вводить индивиду в дозе приблизительно от 0,0001 приблизительно до 100 мг/кг массы тела пациента. В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 можно вводить в дозе приблизительно от 0,1 мг/кг приблизительно до 20 мг/кг массы тела пациента. В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение антитела против PD-1 в дозе приблизительно 1 мг/кг, 3 мг/кг, 5 мг/кг или 10 мг/кг массы тела пациента.

В определенных вариантах осуществления количество антитела против PD-1, вводимое пациенту, может быть меньше терапевтически эффективного количества, т.е. субтерапевтическая доза. Например, если терапевтически эффективное количество антитела против PD-1 содержит 3 мг/кг, субтерапевтическая доза содержит количество меньше 3 мг/кг, например, 2 мг/кг, 1,5 мг/кг, 1 мг/кг, 0,5 мг/кг или 0,3 мг/кг. Как определено в настоящем описании, "субтерапевтическая доза" относится к количеству антитела против PD-1, которое не ведет к терапевтическому эффекту само по себе. Однако в определенных вариантах осуществления субтерапевтическую дозу антитела против PD-1 вводят со вторым и необязательно третьим терапевтическим средством, чтобы содействовать терапевтическому эффекту.

В определенных вариантах осуществления лучевая терапия, вводимая пациенту, содержит 2-100 Грэй (Гр). В определенных вариантах осуществления лучевая терапия содержит 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 20, 23, 25, 27, 30, 35, 40 или 45 Гр. В определенных других вариантах осуществления лучевая терапия содержит 50-100, 60-90 или 70-80 Гр. В определенных вариантах осуществления лучевую терапию вводят 2-12 фракциями (гипофракционированная лучевая терапия), где каждая фракция содержит 2-10 Гр. Например, вводят 30 Гр облучения, которое содержится в 5 фракциях, каждая фракция составляет 6 Гр.

Избранные варианты осуществления.

Избранные варианты осуществления настоящего изобретения включают следующее.

В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие предусматривает способ лечения или ингибирования роста опухоли у пациента, который включает:

(а) выбор индивид со злокачественной опухолью; и

(б) введение индивиду, нуждающемуся в этом, одной или нескольких доз лучевой терапии в комбинации с одной или несколькими дозами терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают запрограммированную смерть 1 (PD-1), где введение комбинации ведет к усиленному терапевтическому эффекту по сравнению со введением отдельно антитела или облучения.

В одном из вариантов осуществления каждая доза антитела против PD-1 содержит между 0,1-20 мг/кг массы тела пациента.

В другом варианте осуществления каждая доза антитела против PD-1 содержит 0,3, 1, 3, 5 или 10 мг/кг массы тела пациента.

В других вариантах осуществления каждая доза антитела против PD-1 содержит 20-400 мг.

В некоторых вариантах осуществления каждая доза антитела против PD-1 содержит 200 мг.

В одном из вариантов осуществления каждая доза облучения содержит 2-80 Грэй (Гр).

В другом варианте осуществления каждая доза антитела против PD-1 содержит 1, 3 или 10 мг/кг массы тела пациента и каждая доза лучевой терапии содержит 20-50 Гр.

В других вариантах осуществления лучевая терапия представляет собой фракционированную лучевую терапию.

В некоторых вариантах осуществления фракционированная лучевая терапия содержит 2-10 фракций.

В одном из вариантов осуществления фракционированная лучевая терапия содержит 30 Гр в 5 фракциях.

В другом варианте осуществления фракционированная лучевая терапия содержит 27 Гр в 3 фракциях.

В других вариантах осуществления вводят 4-50 доз антитела против PD-1, и каждую дозу вводят через 0,5-4 недели после непосредственно предшествующей дозы.

В некоторых вариантах осуществления каждую дозу антитела против PD-1 вводят через 2 недели после непосредственно предшествующей дозы.

В одном из вариантов осуществления антитело против PD-1 вводят до, параллельно с или после лу-

чевой терапии.

В другом варианте осуществления антитело против PD-1 вводят до лучевой терапии.

В других вариантах осуществления антитело против PD-1 вводят за 1 неделю до лучевой терапии.

В некоторых вариантах осуществления усиленный терапевтический эффект включает эффект, выбранный из группы, состоящей из регресса опухоли, абскопального эффекта, ингибирования метастазирования опухоли, уменьшения метастатических поражений с течением времени, сниженного использования химиотерапевтических или цитотоксических средств, снижения опухолевой нагрузки, увеличения выживаемости без прогрессирования, увеличения общей выживаемости, полного ответа, частичного ответа и стабильного заболевания.

В одном из вариантов осуществления усиленный терапевтический эффект включает регресс опухоли в опухоли, которая удалена от облучаемой опухоли.

В другом варианте осуществления опухолевый рост ингибируют по меньшей мере на 50% по сравнению с индивидом, которому вводили только антитело или облучение.

В других вариантах осуществления опухолевый рост ингибируют по меньшей мере на 50% по сравнению с индивидом, которому вводили дозу облучения перед антителом против PD-1.

В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие предусматривает способ лечения опухоли, который включает: (a) выбор пациента со злокачественной опухолью; и (b) введение индивиду по меньшей мере одного цикла лечения, где по меньшей мере один цикл лечения включает 1-6 доз антитела против PD-1 и где каждую дозу вводят через 2 недели после непосредственно предшествующей дозы.

В одном из вариантов осуществления каждая доза антитела против PD-1 содержит 1, 3, 5 или 10 мг/кг массы тела пациента.

В другом варианте осуществления по меньшей мере один цикл лечения дополнительно содержит лучевую терапию.

В других вариантах осуществления лучевая терапия содержит приблизительно 20-50 Гр.

В некоторых вариантах осуществления лучевая терапия содержит приблизительно 27 Гр.

В одном из вариантов осуществления лучевая терапия содержит приблизительно 30 Гр.

В другом варианте осуществления лучевая терапия представляет собой фракционированную лучевую терапию.

В других вариантах осуществления фракционированная лучевая терапия содержит 2-6 фракций.

В некоторых вариантах осуществления фракционированная лучевая терапия содержит 3 фракции.

В одном из вариантов осуществления фракционированная лучевая терапия содержит 5 фракций.

В другом варианте осуществления лучевая терапия содержит приблизительно 27 Гр в 3 фракциях.

В других вариантах осуществления лучевая терапия содержит приблизительно 30 Гр в 5 фракциях.

В некоторых вариантах осуществления фракции вводят в последовательные сутки.

В одном из вариантов осуществления антитело против PD-1 вводят за 1 неделю перед лучевой терапией.

В другом варианте осуществления вплоть до 10 циклов лечения вводят индивиду, нуждающемуся в этом.

В других вариантах осуществления 6 циклов лечения вводят индивиду, нуждающемуся в этом.

В некоторых вариантах осуществления лучевую терапию вводят в первом цикле лечения.

В одном из вариантов осуществления лучевая терапия содержит приблизительно 20-50 Гр.

В другом варианте осуществления лучевая терапия содержит гипофракционированную лучевую терапию.

В других вариантах осуществления фракционированная лучевая терапия содержит 2-6 фракций.

В некоторых вариантах осуществления лучевая терапия содержит приблизительно 27 Гр в 3 фракциях.

В одном из вариантов осуществления лучевая терапия содержит приблизительно 30 Гр в 5 фракциях.

В другом варианте осуществления фракции вводят в последовательные сутки.

В других вариантах осуществления антитело против PD-1 вводят за 1 неделю перед лучевой терапией.

В некоторых вариантах осуществления каждый цикл лечения включает 4 дозы антитела против PD-1.

В одном из вариантов осуществления лечение вызывает терапевтический эффект, выбранный из группы, состоящей из ингибирования опухолевого роста, регресса опухоли, уменьшения размера опухоли, уменьшения числа опухолевых клеток, задержки опухолевого роста, абскопального эффекта, ингибирования метастазирования опухоли, уменьшения метастатических поражений с течением времени, сниженного использования химиотерапевтических или цитотоксических средств, снижения опухолевой нагрузки, увеличения выживаемости без прогрессирования, увеличения общей выживаемости, полного ответа, частичного ответа и стабильного заболевания.

В другом варианте осуществления эффект лечения включает регресс опухоли в опухоли, которая удалена от облучаемой опухоли у пациента.

В других вариантах осуществления опухолевый рост задерживают по меньшей мере на 10 суток по сравнению с индивидом без лечения.

В некоторых вариантах осуществления опухолевый рост ингибируют по меньшей мере на 50% по сравнению с индивидом без лечения.

В одном из вариантов осуществления опухолевый рост ингибируют по меньшей мере на 50% по сравнению с индивидом, которому вводили только антитело или облучение.

В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие предусматривает способ лечения опухоли, который включает: (а) выбор пациента с первым солидным опухолевым повреждением и вторым солидным опухолевым повреждением, где второе солидное опухолевое повреждение расположено удаленно от первого солидного опухолевого повреждения; и (b) введение антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента в комбинации с лучевой терапией.

В других вариантах осуществления лучевую терапию вводят в первое опухолевое повреждение, но не во второе опухолевое повреждение, где введение ведет к регрессу опухоли как в первом, так и во втором опухолевых повреждениях.

В одном из вариантов осуществления антитело против PD-1 вводят перед лучевой терапией.

В другом варианте осуществления индивид резистентен к или в недостаточной мере отвечает на или рецидивировал после предшествующей терапии.

В других вариантах осуществления злокачественная опухоль представляет собой рецидивирующую или метастатическую злокачественную опухоль.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение индивиду дополнительного терапевтического средства или терапии, где дополнительное терапевтическое средство или терапия выбрано из группы, состоящей из хирургического вмешательства, химиотерапевтического средства, вакцины против злокачественной опухоли, ингибитора лиганда запрограммированной смерти 1 (PD-L1), ингибитора гена активации лимфоцитов 3 (LAG3), ингибитора белка 4, ассоциированного с цитотоксическими Т-лимфоцитами (CTLA-4), ингибитора рецептора индуцированного глюкокортикоидами фактора некроза опухоли (GITR), ингибитора, содержащего Т-клеточный иммуноглобулин и муцин-3 (TIM3), ингибитора В- и Т-лимфоцитарного аттенуатора (BTLA), ингибитора Т-клеточного иммунорецептора с доменами Ig и ITIM (TIGIT), ингибитора CD47, ингибитора индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO), биспецифического антитела против CD3/против CD20, антагониста фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), ингибитора ангиопоэтина-2 (Ang2), ингибитора трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF $\beta$ ), ингибитора рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), циклофосамида, антитела к опухолеспецифическому антигену, вакцины из бациллы Кальметта-Герена, цитотоксина, ингибитора рецептора интерлейкина-6 (IL-6R), ингибитор рецептора интерлейкина-4 (IL-4R), ингибитора IL-10, IL-2, IL-7, IL-21, IL-15, конъюгата антитело-лекарственное средство, противовоспалительного лекарственного средства и пищевой добавки.

В одном из вариантов осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой антитело против GITR.

В другом варианте осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой циклофосфамид.

В других вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой GM-CSF.

В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство выбирают из группы, состоящей из доцетаксела, карбоплатина, паклитаксела, цисплатина, гемцитабина и пеметрекседа.

В одном из вариантов осуществления антитело против PD-1 вводят внутривенно, подкожно или интраперитонеально.

В другом варианте осуществления злокачественная опухоль включает солидная опухоль.

В других вариантах осуществления солидная опухоль выбрана из группы, состоящей из рака толстой кишки, рака яичников, рака предстательной железы, рака молочной железы, рака головного мозга, рака шейки матки, рака мочевого пузыря, рака ануса, рака матки, рака ободочной кишки, рака печени, рака поджелудочной железы, рака легких, рака эндометрия, рака кости, рака яичек, рака кожи, рака почки, рака желудка, рака пищевода, рака головы и шеи, рака слюнной железы и миеломы.

В некоторых вариантах осуществления солидную опухоль выбирают из группы, состоящей из гепатоцеллюлярной карциномы, немелкоклеточного рака легких, плоскоклеточного рака головы и шеи, базальноклеточной карциномы, карциномы груди, плоскоклеточной карциномы кожи, хондросаркомы, ангиосаркомы, холангиокарциномы, саркомы мягких тканей, рака толстой кишки, меланомы, карциномы из клеток Меркеля и мультиморфной глиобластомы.

В одном из вариантов осуществления антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) варибельной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и три определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) варибельной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

В другом варианте осуществления антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит три HCDR (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) и три LCDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), где HCDR1

содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; HCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; HCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; LCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.

В других вариантах осуществления HCVR содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 и LCVR содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

В другом варианте осуществления антитело против PD-1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие предусматривает способ ингибирования активации и/или пролиферации регуляторных Т-клеток (Treg), который включает: (a) отбор пациента с солидной опухолью; и (b) введение индивиду (i) антитела против PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента, (ii) проведение лучевой терапии и (iii) введение по меньшей мере одного из антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с рецептором индуцированного глюкокортикоидами фактора некроза опухоли (GITR), циклофосамида, GM-CSF, антитела против LAG3, доцетаксела или карбоплатина.

В одном из вариантов осуществления у индивида имеется крупная опухоль.

В другом варианте осуществления доза облучения составляет 2-50 Гр.

В других вариантах осуществления введение ведет по меньшей мере к одному эффекту, выбранному из группы, состоящей из ингибирования опухолевого роста, регресса опухоли, уменьшения размера опухоли, уменьшения числа опухолевых клеток, задержки опухолевого роста, абскопального эффекта, ингибирования метастазирования опухоли, уменьшения метастатических поражений с течением времени, сниженного использования химиотерапевтических или цитотоксических средств, снижения опухолевой нагрузки, увеличения выживаемости без прогрессирования, увеличения общей выживаемости, полного ответа, частичного ответа и стабильного заболевания.

В некоторых вариантах осуществления солидную опухоль выбирают из группы, состоящей из злокачественной опухоли толстой кишки, злокачественной опухоли яичников, злокачественной опухоли предстательной железы, злокачественной опухоли молочной железы, злокачественной опухоли головного мозга, злокачественной опухоли шейки матки, злокачественной опухоли мочевого пузыря, злокачественной опухоли ануса, злокачественной опухоли матки, злокачественной опухоли ободочной кишки, злокачественной опухоли печени, злокачественной опухоли поджелудочной железы, злокачественной опухоли легких, злокачественной опухоли эндометрия, злокачественной опухоли кости, злокачественной опухоли яичек, рака кожи, злокачественной опухоли почки, злокачественной опухоли желудка, злокачественной опухоли пищевода, злокачественной опухоли головы и шеи, злокачественной опухоли слюнной железы и миеломы.

В одном из вариантов осуществления антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и три определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) вариабельной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

В другом варианте осуществления антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит три HCDR (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) и три LCDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), где HCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; HCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; HCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; LCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.

В других вариантах осуществления HCVR содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и LCVR содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

В одном из вариантов осуществления антитело против PD-1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие предусматривает способ лечения или ингибирования роста опухоли, который включает:

(a) выбор пациента со злокачественной опухолью кожи; и

(b) введение индивиду, терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с PD-1.

В одном из вариантов осуществления указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с PD-1, вводят в качестве монотерапии.

В другом варианте осуществления указанный рак кожи представляет собой УФ-ассоциированную злокачественную опухоль кожи.

В других вариантах осуществления указанную злокачественную опухоль кожи выбирают из группы, состоящей из плоскоклеточной карциномы кожи (CSCC), базальноклеточной карциномы (BCC), карциномы из клеток Меркеля и меланомы.

В некоторых вариантах осуществления предусмотрено, что указанный рак кожи не является плоскоклеточной карциномой головы и шеи.

В одном из вариантов осуществления указанный рак кожи является метастатической, не резектабельной и/или местно распространенной злокачественной опухолью.

В другом варианте осуществления указанный рак кожи представляет собой BCC, где указанный пациент не толерантен к или прогрессирует после лечения с использованием ингибитора пути hedgehog.

В других вариантах осуществления указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в виде одной или нескольких доз, где каждую дозу вводят через от 0,5 до 4 недель после непосредственно предшествующей дозы.

В некоторых вариантах осуществления каждую дозу вводят через 2 недели после непосредственно предшествующей дозы.

В одном из вариантов осуществления каждая доза содержит 1, 3 или 10 мг/кг массы тела пациента.

В другом варианте осуществления указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с PD-1, представляют собой антитело, как определено в любом одном из предшествующих вариантов осуществления.

В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие предусматривает способ лечения или ингибирования роста опухоли у пациента, способ включает: выбор пациента со злокачественной опухолью головного мозга; и введение индивиду, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с PD-1.

В одном из вариантов осуществления индивид имеет мультиформную глиобластому (GBM).

В другом варианте осуществления индивид имеет вновь диагностированную GBM.

В других вариантах осуществления возраст индивида составляет  $\geq 65$  лет.

В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в виде одной или нескольких доз, где каждую дозу вводят через от 0,5 до 4 недель после непосредственно предшествующей дозы.

В одном из вариантов осуществления каждую дозу вводят через 2 недели после непосредственно предшествующей дозы.

В другом варианте осуществления каждая доза содержит 1, 3 или 10 мг/кг массы тела пациента.

В других вариантах осуществления способ дополнительно включает введение лучевой терапии индивиду, нуждающемуся в этом.

В некоторых вариантах осуществления лучевая терапия представляет собой гипофракционированную лучевую терапию.

В одном из вариантов осуществления индивиду вводят 20-50 Гр облучения в 2-20 фракциях.

В другом варианте осуществления индивиду вводят лучевую терапию через 1 неделю после первой дозы антитела против PD-1.

В других вариантах осуществления одна или несколько доз антитела против PD-1 содержатся в одном или нескольких циклах лечения, где каждый цикл содержит 1-6 доз антитела против PD-1.

В некоторых вариантах осуществления каждый цикл лечения содержит 4 дозы антитела против PD-1, где каждую дозу вводят через 2 недели после непосредственно предшествующей дозы.

В одном из вариантов осуществления каждая доза содержит 1, 3 или 10 мг/кг массы тела пациента.

В другом варианте осуществления первый цикл лечения дополнительно содержит лучевую терапию.

В других вариантах осуществления лучевая терапия представляет собой гипофракционированную лучевую терапию.

В некоторых вариантах осуществления индивиду вводят 20-50 Гр облучения в 2-20 фракциях.

В одном из вариантов осуществления индивиду вводят 30 Гр в 5 ежедневных фракциях.

В другом варианте осуществления лучевую терапию вводят через одну неделю после введения антитела против PD-1.

В других вариантах осуществления способ дополнительно включает введение антиангиогенного средства индивиду, если у пациента развивается внутричерепной отек после введения антитела против PD-1.

В некоторых вариантах осуществления антиангиогенное средство выбирают из группы, состоящей из ингибитора фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и ингибитора ангиопоэтина-2 (Ang-2).

В одном из вариантов осуществления антиангиогенное средство представляет собой бевацизумаб или афлиберцепт.

В других вариантах осуществления указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с PD-1, представляет собой антитело, как определено в любом одном из предшествующих вариантов осуществления.

### Примеры

Следующие примеры приведены с тем, чтобы предоставить средним специалистам в данной области полное раскрытие и описание того, как создавать и использовать способы и композиции по изобретению, и не предназначены ограничивать объем того, что авторы изобретения рассматривают в качестве своего изобретения. Предприняты усилия, чтобы обеспечить точность в отношении используемых чисел (например, количеств, температуры и т.д.), но следует принимать во внимание некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, части представляют собой массовые части, молекулярная масса представляет собой усредненную молекулярную массу, температура в градусах Цельсия и давление равно атмосферному или близко к нему.

Пример 1. Эффект антитела против PD-1 *in vivo* в комбинации с лучевой терапией против опухолей MC38.

В этом примере эффект блокирования PD-1 в комбинации с лучевой терапией исследовали на возникших опухолях MC38 у мышей.

$5 \times 10^5$  клеток карциномы ободочной кишки MC38 имплантировали подкожно в правый бок самкам мышей C57BL/6 (Jackson Laboratory). Лечение инициировали в сутки 9 после имплантации, когда усредненные объемы опухолей достигали приблизительно  $100 \text{ мм}^3$ . Мышей распределяли случайным образом для того, чтобы вводить или изотипический контроль (2A3, BioXcell) или PD-1-блокирующее антитело (RMP1-14, BioXcell) по 5 мг/кг, 2 раза в неделю, в течение всего 5 интраперитонеальных инъекций. Через одни сутки после начала лечения антителами, мышей распределяли по группам лучевой терапии, которые получали 12 Гр облучения в их опухолях в правом боку. Лучевую терапию доставляли с использованием RS 2000 Biological Research Irradiator (Rad Source) анестезированным мышам (кетамин/ксилазин), которых экранировали с использованием крепления тела при частичном облучении (Precision X-ray) и свинцовой защиты (Images Scientific Instruments). Опухолевый рост оценивали 3 раза в неделю до суток 70-80, когда умерщвляли всех мышей. На фиг. 1 представлен план исследования для эксперимента, который включает дозирование антитела против PD-1 и облучения.

На фиг. 2 и в табл. 1 показаны усредненные объемы опухолей у мышей, которым вводили антитело против PD-1 отдельно или в комбинации с облучением.

Таблица 1

Усредненные объемы опухолей у мышей, которым вводили антитело против PD-1 отдельно или в комбинации с облучением

Сутки после имплантации	Усредненный объем опухоли ( $\text{мм}^3 \pm \text{SEM}$ )			
	Изотипический контроль	Антитело против PD-1	Изотипический контроль+облучение	Антитело против PD-1+облучение
4	15,39±3,70	8,62±3,02	13,28±3,44	10,78±3,01
7	41,11±8,81	38,90±7,09	49,86±11,38	39,36±6,32
8	68,64±10,01	72,03±12,13	74,03±14,83	73,70±14,86
10	85,82±4,10	94,98±22,68	100,88±11,46	122,05±15,05
14	725,87±68,45	834,37±206,70	320,10±58,80	300,67±60,74
16	1023,61±191,41	1123,51±310,04	276,17±82,81	219,29±45,94
18	1573,64±263,65	1710,30±424,30	353,45±121,47	250,17±74,70
21	2688,69±502,39	2569,65±633,35	494,53±211,90	188,98±105,80
23			597,70±267,02	141,37±73,76
25			671,93±347,76	134,87±75,67
28			879,64±403,70	147,82±70,88
30			1081,39±426,80	133,13±88,88
32				177,73±112,81
36				233,44±152,91

39				258,23±158,67
42				316,58±160,91
44				332,73±152,43
46				456,13±209,45
49				564,05±262,32
51				925,92±434,29
53				747,14±350,90
56				1290,10±584,62

Блокирование PD-1 (RMP1-14) проявляло синергический эффект с локальным облучением (XRT) и значительно снижало регресс опухоли (4/6 мышей) у несущей опухоль MC38 мышей в сравнении с мышами, которых лечили XRT + изотипическим контролем (2/6 мышей). Опухолевый рост ингибировали или задерживали у мышей, которых лечили антителом против PD-1 в комбинации с облучением. Мышам, которых лечили антителом против PD-1 и облучением, требовалось больше чем 40 суток, чтобы достичь объема опухоли 500 мм<sup>3</sup>, по сравнению с мышами на монотерапии, которым требовалось меньше чем 20 суток, чтобы достичь объема опухоли 500 мм<sup>3</sup>. Регресс опухоли продолжался в течение вплоть до 4 недель для группы комбинированного лечения (XRT+антитело против PD-1) (в этот момент времени рецидивировала 1 из 4 отторгнутых опухолей) в сравнении 1,5 недели для группы лечения XRT + изотипом (рецидивировала 1 из 2 отторгнутых опухолей). В этой модели опухоли блокирование PD-1 в качестве монотерапии не оказывало эффект на первичный опухолевый рост.

Таблица 2

Процент выживаемости мышей, которым вводили антитело против PD-1 отдельно или в комбинации с облучением

Сутки после имплантации	Изотип	Против PD-1	Облучение+изотип	Облучение+против PD-1
4	100	100	100	100
7	100	100	100	100
8	100	100	100	100
10	100	100	100	100
14	100	100	100	100
16	100	100	100	100
18	100	100	100	100
21	100	100	100	100
23	100	83	100	100
25	67	50	100	100

28	33	50	100	100
30	17	17	100	100
32	0	17	67	100
36	0	0	67	100
44	0	0	50	100
46	0	0	50	100
49	0	0	50	100
51	0	0	33	100
53	0	0	17	100
56	0	0	17	100
58	0	0	17	83
60	0	0	17	50
63	0	0	17	50
65	0	0	17	50
81	0	0	17	50
85	0	0	17	50

Терапевтический эффект комбинированного лечения (XRT+антитело против PD-1) демонстрировали с помощью статистически увеличенной общей выживаемости этой группы (50% живых в 70 сутки после имплантации опухоли) в сравнении со всеми другими группами лечения: изотипический контроль (0% живых в d70), лечение антителом против PD-1 (0% живых в d70) и мыши, которых лечили XRT + изотипом (17% живых в d70) (фиг. 3; табл. 2).

Пример 2. Эффект антитела против PD-1 *in vivo* и лучевой терапии против опухолей B16.

В этом примере исследовали противоопухолевый эффект антитела против PD-1 мыши в комбинации с лучевой терапией против возникших опухолей B16 у мышей.

$2 \times 10^5$  клеток меланомы B16F10.9 имплантировали подкожно в правый бок самкам мышей C57BL/6 (Jackson Laboratory). Лечение инициировали, когда усредненный объем опухолей достигал приблизительно  $150 \text{ мм}^3$ . Мышей распределяли случайным образом для того, чтобы вводить или изотипический контроль (2A3, BioXcell) или PD-1-блокирующее антитело (RMP1-14, BioXcell) по 5 мг/кг, 2 раза в неделю, в течение всего 5 интраперитонеальных инъекций. Через одни сутки после начала лечения антителами, мышей распределяли по группам лучевой терапии, которые получали 8 Гр облучения в их опухолях в правом боку. Лучевую терапию доставляли с использованием RS 2000 Biological Research Irradiator (Rad Source) анестезированным мышам (кетамин/ксилазин), которых экранировали с использованием крепления тела при частичном облучении (Precision X-ray) и свинцовой защиты (Images Scientific Instruments). Опухолевый рост оценивали 3 раза в неделю до суток 70-80, когда умерщвляли всех мышей. На фиг. 4 представлен план исследования для эксперимента, который включает дозирование антитела против PD-1 и облучения.

Лечение PD-1 (RMP1-14) блокирующим антителом в комбинации с локальным облучением (XRT) задерживало первичный рост опухоли B16 в сравнении с монотерапией XRT или антителом против PD-1 (фиг. 5; табл. 3).



Таблица 3

Усредненные объемы опухолей у мышей, которым вводили антитело против PD-1 отдельно или в комбинации с облучением

Сутки после имплантации	Усредненный объем опухоли мм <sup>3</sup> ±SEM			
	Изотипический контроль	Антитело против PD-1	Изотипический контроль+облучение	Антитело против PD-1+облучение
6	5,75±5,75	8,32±8,32	13,79±13,79	1,14±0,85
8	55,98±27,15	62,66±15,80	57,18±37,79	50,57±38,33
12	157,34±37,88	144,36±37,81	237,84±71,27	177,91±59,17
15	334,71±61,71	193,32±35,53	510,95±171,15	372,53±147,50
18	621,43±136,09	363,80±45,72	739,62±244,10	440,33±194,90
20	939,69±158,50	561,64±49,44	677,48±175,75	486,35±207,65
22	1329,77±202,01	772,16±118,26	759,15±235,94	512,67±220,30
25	2602,08±434,08	1343,42±120,65	1182,27±336,32	789,80±299,24
27		1533,03±179,88	1321,13±400,18	877,82±296,51
29		2104,46±350,48		944,67±333,16
33				1024,71±321,20
36				1237,68±340,52

Таблица 4  
Процент выживаемости мышей, которым вводили антитело против PD-1  
отдельно или в комбинации с облучением

Сутки после имплантации	Изотип	Против PD-1	Облучение+изотип	Облучение+против PD-1
0	100	100	100	100
6	100	100	100	100
8	100	100	100	100
12	100	100	100	100
15	100	100	100	100
18	100	100	100	100
20	100	100	100	100
22	100	100	100	100
25	100	100	100	100
27	40	100	100	100
29	0	100	80	100
33	0	80	80	100
36	0	20	60	100
39	0	0	60	83
41	0	0	60	83
43	0	0	20	67
46	0	0	20	67
48	0	0	20	50
50	0	0	0	50
53	0	0	0	33
55	0	0	0	33
57	0	0	0	33
60	0	0	0	17
62	0	0	0	17
64	0	0	0	17
66	0	0	0	0

Комбинация лечения XRT+антителом против PD-1 увеличивала общую выживаемость (50% живых в d50 после имплантации) в сравнении с отдельно XRT (0% живых к d50), отдельно антителом против PD-1 (0% живых к d40) и отдельно изотипом (0% живых к d30) (фиг. 6; табл. 4).

Пример 3. Эффект антитела против PD-1 *in vivo* в комбинации с лучевой терапией против метастатических опухолей легких.

В этом примере эффект блокирования PD-1 в комбинации с лучевой терапией исследовали против возникших и метастатических опухолей у мышей.

$1,5 \times 10^5$  клеток маммарной карциномы 4T1 имплантировали подкожно в правый бок самкам мышей Balb/c (Jackson Laboratory). Лечение инициировали в сутки 12 после имплантации, когда усредненные объемы опухолей достигали приблизительно  $100 \text{ мм}^3$ . Мышей распределяли случайным образом для того, чтобы вводить или изотипический контроль (2A3, BioXcell) или PD-1-блокирующее антитело (RMP1-14, BioXcell) по 5 мг/кг, 2 раза в неделю, в течение всего 5 интраперитонеальных инъекций. Через одни сутки после начала лечения антителами, мышей распределяли по группам лучевой терапии, которые получали 8 Гр облучения в их опухолях в правом боку. Лучевую терапию доставляли с использованием RS 2000 Biological Research Irradiator (Rad Source) анестезированным мышам (кетамин/ксилазин), которых экранировали с использованием крепления тела при частичном облучении (Precision X-ray) и свинцовой защиты (Images Scientific Instruments). Опухолевый рост оценивали 3 раза в неделю до суток 28, когда умерщвляли всех мышей, чтобы оценивать метастатическую нагрузку легких с использованием клоногенного анализа. В кратком изложении, легочную ткань подвергали диссоциации с использованием DNAase/Liberase TL (Roche) и культивировали в средах с добавлением 60 мкМ 6-тиогуанина. После двух недель в культуре, проводили контрастное окрашивание чашек метиленовыми синим и определяли число колоний (одна колония представляет одну метастатическую клетку 4T1).

Ожидают, что лечение антителом против PD-1 в комбинации с облучением способствует регрессу опухоли, а также опосредует супрессию метастатического роста.

Пример 4. Эффект *in vivo* антитела против PD-1 человека в комбинации с лучевой терапией способствует абскопальному эффекту против отдаленных опухолей.

В этом примере эффект блокирования PD-1 в комбинации с лучевой терапией исследовали против первичных и отдаленных опухолей MC38 у мышей, гуманизированных по PD-1, используя антитела про-

тив PD-1 человека.

Образцовое антитело против PD-1, используемое в этом примере, представляет собой REGN2810 (также известное как H4H7798N, как раскрыто в US 20150203579), моноклональное антитело полностью человека против PD-1, содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; пара аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR содержит SEQ ID NO: 1/2; и последовательности CDR тяжелых и легких цепей содержат SEQ ID NO: 3-8.

Мышей, гуманизированных по PD-1, конструировали с использованием технологии VelociGene® (Valenzuela et al. 2003, Nat. Biotechnol. 21: 652-659; публикация патентной заявки США 2015/0366174).

$5 \times 10^5$  клеток карциномы ободочной кишки MC38 имплантировали подкожно самкам гуманизированных мышей PD-1/C57BL/6 в сутки 0 (первичная опухоль в правом боку) и сутки 3 (опухоль в левом боку; отдаленная опухоль). Лечение инициировали, когда усредненные объемы первичных опухолей достигали приблизительно  $150 \text{ мм}^3$ . Мышей распределяли случайным образом для того, чтобы вводить изотипический контроль или PD-1-блокирующее антитело (REGN2810) по 5 мг/кг, 2 раза в неделю, в течение всего 8 интраперитонеальных инъекций. Через одни сутки после начала лечения антителами, мышей распределяли по группам лучевой терапии, которые получали 8 Гр облучения в их опухолях в правом боку. Лучевую терапию доставляли с использованием RS 2000 Biological Research Irradiator (Rad Source) анестезированным мышам (кетамин/ксилазин), которых экранировали с использованием крепления тела при частичном облучении (Precision X-ray) и свинцовой защиты (Images Scientific Instruments). Первичный и вторичный опухолевый рост оценивали 3 раза в неделю до суток 70-80, когда умерщвляли всех мышей. На фиг. 7 представлен план исследования для эксперимента, который включает дозирование антитела против PD-1 и облучения.

Результаты.

Первичная опухоль: лечение блокированием PD-1.

(REGN2810) проявляло синергический эффект с локальным облучением (XRT) при отторжении первичных опухолей MC38 (4 из 6 безопухолевых мышей) в сравнении с мышами, которых лечили XRT+изотипическим контролем (1/6 безопухолевых мышей). Регресс опухоли продолжался в группе комбинированного лечения в течение 8 недель до конца эксперимента в сравнении с тремя неделями для группы лечения XRT+изотипом (отторгнутая опухоль рецидивировала в этот момент времени) (фиг. 8; табл. 5).

Таблица 5

Усредненные объемы первичных опухолей у мышей, которым вводили REGN2810 отдельно или в комбинации с облучением

Сутки после имплантации	Усредненный объем опухоли ( $\text{мм}^3 \pm \text{SEM}$ )			
	Изотипический контроль	REGN2810	Изотипический контроль+облучение	REGN2810+облучение
4	8,47±5,22	13,86±7,13	9,02±3,07	3,75±3,75
5	14,32±4,76	22,08±2,69	27,54±4,90	10,00±3,17
7	39,43±5,36	35,47±6,73	42,72±8,00	32,80±10,60
9	62,68±12,03	84,73±20,91	68,27±11,65	47,26±11,65
10	111,78±24,45	108,15±27,17	96,18±18,07	75,13±11,56
11	147,89±36,11	176,67±43,99	111,87±10,12	110,27±25,02
12	171,76±41,23	154,97±44,16	153,69±16,06	121,88±29,86

14	304,95±94,96	221,70± 65,96	147,22±19,77	144,71±34,28
17	609,24±227,64	296,69± 95,14	116,65±27,03	135,26±57,41
19		369,17± 128,37	114,85±38,73	124,59±55,50
21		442,13± 158,80	127,77±36,92	130,00±78,30
24		641,92± 275,23	198,40±67,81	113,25±74,51
26		896,32± 389,54	252,51±98,39	116,90±101,35
28		1200,99± 498,27	331,78±125,55	120,05±89,32
31			477,34±181,97	168,62±151,18
33				189,07±154,91
35				164,70±127,33
38				216,32±159,47
40				219,35±156,39
42				292,37±204,83

Блокирование PD-1 в качестве монотерапии опосредовало отторжение у 2 из 5 мышей; однако 1 из мышей, которые отторгли свою первичную опухоль, подвергались второму опухолевому росту, что вело только к 1 мышью, выжившей до конца эксперимента. Мощный терапевтический эффект комбинированного лечения (XRT+REGN2810) демонстрировали с помощью статистически увеличенной общей выживаемости (~67% живых в 70 сутки после имплантации опухоли) в сравнении со всеми другими группами: отдельно изотипический контроль или XRT (0% живых в d70) и REGN2810 в качестве монотерапии (20% живых в d70) (фиг. 9; табл. 6).

Таблица 6  
Процент выживаемости у мышей, которым вводили REGN2810  
отдельно или в комбинации с облучением

Сутки после имплантации	Изотип	REGN2810	Облучение+изотип	Облучение+REGN2810
0	100	100	100	100
4	100	100	100	100
5	100	100	100	100
7	100	100	100	100
9	100	100	100	100
10	100	100	100	100
11	100	100	100	100
12	100	100	100	100
14	100	100	100	100
17	100	100	100	100
19	83	100	100	100
21	83	100	100	100
24	83	100	100	100
26	50	100	100	100
28	33	100	100	100
31	33	67	100	100
33	33	33	83	100
35	33	33	67	100
38	33	33	50	100
40	17	17	50	100

42	17	17	50	100
44	17	17	50	100
49	0	17	17	83
54		17	0	83
56		17	0	83
59		17	0	83
61		17	0	67
63		17	0	67

Отдаленная опухоль: REGN2810 в комбинации с XRT значительно способствовало абскопальному эффекту (отторжение опухоли, имплантированной в отдаленном месте) при 5 из 6 безопухолевых мышей в сравнении с отдельно XRT (2/6 без отдаленных опухолей), отдельно REGN2810 (1/6 без отдаленных опухолей) и мышами, которых лечили изотипическим контролем (1/6 без отдаленных опухолей) (фиг. 10; табл. 7).

Таблица 7

Усредненные дистальные объемы опухолей у мышей, которым вводили REGN2810 отдельно или в комбинации с облучением

Сутки после имплантации	Усредненный объем опухоли (мм <sup>3</sup> ±SEM)			
	Изотипический контроль	REGN2810	Изотипический контроль+ облучение	REGN2810+ облучение
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
4	0	0	0	0
6	0	0	0	0
7	11,13±11,13	0	0	0
8	20,01±20,01	0	3,26±3,26	0
9	25,43±25,43	7,00±7,00	9,75±9,75	0
11	31,93±29,32	42,24±26,88	28,81±17,01	12,13±12,13
14	56,20±34,46	59,40±29,41	57,64±29,91	20,93±14,07
16		58,64±29,57	95,78±52,87	14,03±9,79
18		151,71±76,86	115,16±59,43	22,87±16,20
21		207,13±128,83	227,22±105,46	17,01±17,01
23		333,43±220,57	335,13±148,86	9,51±9,51
25		506,55±355,36	503,71±211,49	11,45±11,45
28			968,92±418,57	31,59±31,59
30				57,40±57,40
32				83,94±83,94
35				133,89±133,89
37				224,65±224,65

Пример 5. Эффект антитела против PD-1 in vivo в комбинации с лучевой терапией и антагонистом GITR против опухолей MC38.

В этом примере эффект блокирования PD-1 в комбинации с лучевой терапией и антагонистом рецептора индуцированного глюкокортикоидами фактора некроза опухоли (GITR) (антитело против GITR) исследовали против крупных возникших опухолей MC38 у мышей.

5×10<sup>5</sup> клеток карциномы ободочной кишки MC38 имплантировали подкожно в правый бок самкам мышей C57BL/6 (Jackson Laboratory). Лечение инициировали, когда усредненные объемы опухолей достигали приблизительно 150-200 мм<sup>3</sup> (относится к категории "крупные опухоли"). Мышей распределяли случайным образом для того, чтобы вводить антитело изотипического контроля (2A3 или LTF-2; BioXcell), антитело против PD-1 (RMP1-14; BioXcell), антитело против GITR (DTA-1; BioXcell) или комбинацию антитела против PD-1 и антитела против GITR по 5 мг/кг, 2 раза в неделю, в течение всего 5 интраперитонеальных инъекций. Через одни сутки после начала лечения антителами, мышей распределяли по группам лучевой терапии, которые получали 8 Гр облучения в их опухолях в правом боку. Лучевую терапию доставляли с использованием RS 2000 Biological Research Irradiator (Rad Source) анестезированным мышам (кетамин/ксилазин), которых экранировали с использованием крепления тела при частичном облучении (Precision X-ray) и свинцовой защиты (Images Scientific Instruments). Опухолевый рост оцени-

вали 3 раза в неделю до суток 70-80, когда умерщвляли всех мышей. На фиг. 11 представлен план исследования для эксперимента, который включает дозирование антитела против PD-1, антитела против GITR и облучения.

Лечение антителом против PD-1 (RMP1-14) проявляло синергический эффект с локальным облучением (XRT) и антителом против GITR при отторжении крупных опухолей MC38 (4 из 6 безопухолевых мышей) в сравнении с XRT+антитело против GITR (2/6 без опухолей), XRT+антитело против PD-1 (2/6 отторгались) или мышами, которых лечили только XRT (0/6 без опухолей). Монотерапия (с использованием антитела против PD-1 или антитела против GITR) или комбинированное лечение (антитело против PD-1+антитело против GITR) оказывали минимальный эффект на опухолевый рост, причем лечение антителом против PD-1 или антителом против GITR опосредовало отторжение у 1/5 мышей и комбинация двух антител опосредовала отторжение у 2/5 мышей. Регресс опухоли продолжался в течение вплоть до 6,5 недели после начала лечения для мышей, которых лечили тройной комбинацией, против 2 недель для мышей, которых лечили XRT+антителом против GITR (фиг. 12).

Таблица 8

Процент выживаемости мышей, которым вводили антитело против PD-1 в комбинации с облучением и антителом против GITR

Сутки после имплантации	Изо тип	Анти PD-1	Анти GITR	Анти PD-1 +анти GITR	Облучение +изотип	Облучение +против PD-1	Облучение +против GITR	Облучение +против PD-1+против GITR
0	100	100	100	100	100	100	100	100
28	100	100	80	100	100	100	100	100
32	80	80	80	80	100	100	100	100
35	60	60	40	60	100	80	83	100
38	20	20	20	60	40	80	50	100
41	0	20	20	60	20	60	50	100
48	0	20	20	60	0	60	50	83
56	0	20	20	40	0	40	33	67
66	0	20	20	40	0	40	17	67
77	0	20	20	40	0	40	17	67

В табл. 8 и на фиг. 13 показана выживаемость мышей, которым вводили антитело против PD-1 в комбинации с лучевой терапией и антителом против GITR. Кроме того, введение антитела против PD-1+XRT вело к регрессу опухоли в очень крупных опухолях (~300 мм<sup>3</sup>).

Пример 6. Эффект антитела против PD-1 *in vivo* в комбинации с лучевой терапией и антагонистом GITR против опухолей B16.

В этом примере эффект блокирования PD-1 в комбинации с лучевой терапией и антагонистом GITR (антителом против GITR) исследовали против возникших опухолей B16 у мышей.

2,5×10<sup>5</sup> клеток меланомы B16F10.9 имплантировали подкожно в правый бок самкам мышей C57BL/6 (Jackson Laboratory). Лечение инициировали, когда усредненные объемы опухолей достигали приблизительно 100 мм<sup>3</sup>. Мышей распределяли случайным образом для того, чтобы вводить изотипические контроли (2A3, LTF-2; BioXcell), антитело против PD-1 (RMP1-14, BioXcell), антитело против GITR (DTA-1; BioXcell) или комбинацию антитела против PD-1 и антитела против GITR по 5 мг/кг, 2 раза в неделю, в течение всего 5 интраперитонеальных инъекций. Через одни сутки после начала лечения антителами, мышей распределяли по группам лучевой терапии, которые получали 8 Гр облучения в их опухолях в правом боку. Лучевую терапию доставляли с использованием RS 2000 Biological Research Irradiator (Rad Source) анестезированным мышам (кетамин/ксилазин), которых экранировали с использованием крепления тела при частичном облучении (Precision X-ray) и свинцовой защиты (Images Scientific Instruments). Опухолевый рост оценивали 3 раза в неделю до суток 70-80, когда умерщвляли всех мышей.

Ожидают, что антитело против PD-1 в комбинации с антителом против GITR и лучевой терапией содействует большему регрессу опухоли и задержке опухолевого роста, чем монотерапия или антитело против PD-1 в комбинации с лучевой терапией.

Пример 7. Клиническое исследование антитела против PD-1 и лучевой терапии у пациентов с распространенными солидными опухолями.

Это исследование представляет собой открытое многоцентровое исследование с увеличением дозы с несколькими группами увеличения и экспансии дозы, чтобы исследовать эффект, безопасность и переносимость антитела против PD-1 отдельно и в комбинации с другой терапией против злокачественной опухоли (включая лучевую терапию), у взрослых пациентов с распространенными солидными опухолями.

Образцовое антитело против PD-1, используемое в этом исследовании, представляет собой REGN2810 (также известное как H4H7798N, как раскрыто в US20150203579), моноклональное антитело полностью человека против PD-1, содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, содержащую SEQ ID NO: 1/2; и последовательности CDR тяжелых и легких цепей, содержащие SEQ ID NO: 3-8.

#### Цели исследования.

Основная цель исследования состоит в том, чтобы определять характеристики безопасности, переносимости, ограничивающих дозу токсичностей (DLT) REGN2810, который вводили внутривенно (IV) в качестве монотерапии или в комбинации с направленным облучением (с намерением иметь это в качестве иммуностимулирующей, а не первичной абляционной опухолевой терапии), низкой дозы циклофосфамида (показано, что терапия ингибирует ответы регуляторных T-клеток), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, карбоплатина, доцетаксела или их сочетания у пациентов с распространенными злокачественными новообразованиями.

Второстепенные цели исследования представляют собой: (1) определять рекомендованную дозу 2 фазы (RP2D) для REGN2810 в качестве монотерапии и в комбинации с другой терапией против злокачественной опухоли (направленное облучение, низкая доза циклофосфамида или и то и другое); (2) описывать предварительную противоопухолевую активность REGN2810, отдельно и с каждым партнером(ами) комбинации; (3) определять PK характеристики REGN2810 в качестве монотерапии и в комбинации с другой терапией против злокачественной опухоли (направленное облучение, низкая доза циклофосфамида или и то и другое); и (4) оценивать иммуногенность REGN2810.

#### Обоснование плана исследования.

Модель 3+3 для фазы увеличения дозы в этом исследовании разрабатывали для того, чтобы сделать возможной оценку безопасности REGN2810, как в качестве монотерапии при различных уровнях дозы, так и в комбинации с иммуноукрепляющим лечением: циклофосфамид; ограниченное направленное облучение, доставляемое по 1 из 2 схем дозирования; или комбинированное облучение и циклофосфамид.

Когда переносимость REGN2810 устанавливали отдельно и в комбинации с облучением и/или циклофосфамидом, несколько когорт экспансии с использованием различных комбинаций или монотерапии при выбранных показаниях [NSCLC, BC, HNSCC, CCCC, опухоли с MSI (ободочной и прямой кишки, эндометрия, предстательной железы или опухоли других типов), HCC и другие распространенные солидные опухоли] добавляют для того, чтобы дополнительно подтверждать безопасность и оценивать прирост противоопухолевой активности. Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), карбоплатин и/или доцетаксел добавляют в некоторые из этих комбинаций.

В табл. 9 перечислены некоторые когорты, в которых использовали монотерапию REGN2810 и комбинации с другими модальностями лечения.

Таблица 9

Список некоторых когорт экспансии для монотерапии REGN2810 и комбинированной терапии

Когорта	Показание	Лечение
1	Немелкоклеточная злокачественная опухоль легких (NSCLC)	Постоянная доза - 200 мг REGN2810
2	NSCLC	3 мг/кг REGN2810+лучевая терапия (9 Гр×3)
3	Плоскоклеточная карцинома головы и шеи (HNSCC)	3 мг/кг REGN2810+лучевая терапия (9 Гр×3)+циклофосфамид+GM-CSF
4	Злокачественная опухоль молочной железы (BC)	3 мг/кг REGN2810+лучевая терапия (9 Гр×3)+циклофосфамид
5	Распространенные солидные опухоли - предыдущее лечение с использованием антитела против PD-1/PD-L1	3 мг/кг REGN2810+лучевая терапия (9 Гр×3)+циклофосфамид+GM-CSF
6	Распространенные солидные опухоли (за исключением NSCLC, HNSCC, и BC)	3 мг/кг REGN2810+лучевая терапия (9 Гр×3)+циклофосфамид+GM-CSF
7	Метастатическая (M1) плоскоклеточная карцинома кожи (CSCC)	3 мг/кг REGN2810

8	Локально и/или регионарно распространенная CSCC (M0), которая является не резектабельной	3 мг/кг REGN2810
9	Метастатическая злокачественная опухоль толстой кишки с микросателлитной нестабильностью (MSI)	3 мг/кг REGN2810
10	Метастатическая злокачественная опухоль эндометрия с MSI	3 мг/кг REGN2810
11	Кастрационная рецидивирующая злокачественная опухоль предстательной железы с MSI	3 мг/кг REGN2810
12	Любая другая распространенная солидная опухоль с MSI	3 мг/кг REGN2810
13	Распространенная или метастатическая гепатоцеллюлярная злокачественная опухоль (HCC)	3 мг/кг REGN2810
14	Распространенная солидная опухоль, рефракторная к химиотерапии первой линии	3 мг/кг REGN2810+карбоплатин+доцетаксел (низкая доза)
15	Распространенная солидная опухоль, рефракторная к химиотерапии первой линии	3 мг/кг REGN2810+доцетаксел (низкая доза)
16	Метастатическая злокачественная опухоль толстой кишки с MSI, которую предварительно не лечили	3 мг/кг REGN2810
17	Распространенная NSCLC, которую предварительно не лечили	3 мг/кг REGN2810+карбоплатин+доцетаксел (низкая доза)
18	Вновь диагностированная мультиформная глиобластома (GBM)	REGN2810 (1 или 3 мг/кг)+лучевая терапия (6 Гр × 5 суток)
19	Рецидивирующая GBM	REGN2810 (1 или 3 мг/кг)+лучевая терапия (6 Гр × 5 суток)
20	HIV и солидные опухоли	3 мг/кг REGN2810
21	Распространенная NSCLC, которую предварительно не лечили	3 мг/кг REGN2810+Карбоплатин+Паклитаксел (полная доза)
22	Распространенная не сквамозная NSCLC, которую предварительно не лечили	3 мг/кг REGN2810+цисплатин+пеметрексед
23	Распространенная сквамозная NSCLC, которую предварительно не лечили	3 мг/кг REGN2810+цисплатин+гемцитабин
24	Злокачественная опухоль шейки матки, рецидивирующая или метастатическая	3 мг/кг REGN2810
25	Базальноклеточная карцинома, рефракторная к ингибированию пути hedgehog	3 мг/кг REGN2810
26	Распространенная солидная опухоль	3 мг/кг REGN2810

Начальное запланированное лечение с использованием REGN2810 составляет каждые 14 суток вплоть до 48 недель, с последующим наблюдением 24 недели. Облучение вводят через неделю после первой дозы REGN2810. Низкую дозу циклофосфида вводят пациентам, отнесенным к циклофосфамиду, за 1 сутки до каждой из первых 4 доз REGN2810.

Длительность исследования.

Пациенты получают вплоть до 48 недели лечения, после которой следует период наблюдения 24



недели. Пациент получает лечение до завершения периода лечения 48 недель или до прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности, отзыва согласия или выполнения другого критерия прекращения исследования. Через минимум 24 недели лечения пациенты с подтвержденными полными ответами (CR) могут выбирать прервать лечение и продолжить все релевантные оценки исследования (например, оценки эффекта). Через минимум 24 недели лечения, пациенты с оценками опухолевой нагрузки для стабильного заболевания (SD) или частичным ответом (PR), которые не менялись в течение 3 последовательных оценок опухоли, также могут выбирать прервать лечение и продолжить все релевантные оценки исследования (например, оценки эффекта).

Исследуемая популяция.

Целевая популяция для этого исследования включает пациентов с распространенными злокачественными новообразованиями, которые не являются кандидатами на стандартную терапию, не желают проходить стандартную терапию или для которых ожидают, что доступная терапия не принесет клиническую пользу; и пациентов со злокачественными новообразованиями, которые являются неизлечимыми и не смогли продемонстрировать ответ или демонстрировали прогрессирование опухоли, несмотря на стандартную терапию.

Критерии включения: пациент должен отвечать следующим критериям, чтобы подходить для включения в исследование: (1) демонстрировать прогрессирование солидной опухоли в отсутствие доступной альтернативной возможности стандартной терапии; (2) по меньшей мере 1 повреждение для оценки ответа. Пациентам, отнесенным к лучевой терапии, нужно по меньшей мере одно дополнительное повреждение, которое можно безопасно облучать, при этом сохраняя индексные повреждения, и у которых облучение в рассматриваемых ограниченных паллиативных дозах сочтут подходящим для медицинского применения; (3) пациенты должны иметь рецидив после терапии первой линии или быть рефракторными к ней (и вплоть до 2 предшествующих линий терапий) в условиях рецидивирующего или метастатического заболевания и должны иметь заболевание, для которого показана паллиативная лучевая терапия; (4) пациенты с метастатической злокачественной опухолью с микросателлитной нестабильностью (MSI), рефракторной ко вплоть до 2 предшествующих линий терапии; (5) функциональное состояние по Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)  $\leq 1$ ; (6) возраст больше 18 лет; (7) функция печени: а) общий билирубин  $\leq 1,5 \times$  верхнего предела нормы (ULN; если метастазы печени  $\leq 3 \times$  ULN), б) трансаминазы  $\leq 3 \times$  ULN (или  $\leq 5,0 \times$  ULN, если метастазы печени), в) щелочная фосфатаза (ALP)  $\leq 2,5 \times$  ULN (или  $5,0 \times$  ULN, если метастазы печени); (8) функция почек: креатинин сыворотки  $\leq 1,5 \times$  ULN; (9) число нейтрофилов (ANC)  $\geq 1,5 \times 10^9/\text{л}$ , в) число тромбоцитов  $\geq 75 \times 10^9/\text{л}$ ; (10) способность предоставить подписанное информированное согласие; и (11) способность и готовность выполнять запланированные визиты, план лечения, лабораторные тесты и другие связанные с исследованием процедуры.

Исследуемое лечение.

REGN2810 поставляли в виде жидкости в стерильных флаконах одноразового использования. Каждый флакон содержит объем, достаточный, чтобы набрать 10 мл REGN2810 в концентрации 25 мг/мл. REGN2810 вводят в амбулаторных условиях в виде IV инфузии 30 мин. Доза каждого пациента зависит от массы тела индивидуума. Дозу REGN2810 корректируют каждый цикл при изменениях массы тела  $\geq 10\%$ . REGN2810 вводят отдельно или в комбинации с облучением и/или циклофосфамидом. Циклофосфамид вводят по 200 мг/м<sup>2</sup> или в низкой дозе (100 мг/м<sup>2</sup>).

Монотерапия.

REGN2810 вводят в амбулаторных условиях посредством IV инфузии в течение 30 мин каждые 14 суток в течение 48 недель (т.е. сутки 1, 15 $\pm$ 3, 29 $\pm$ 3 и 43 $\pm$ 3 цикла 56 суток). Запланированные схемы монотерапии, к которым следует относить, могут включать: (i) IV инфузия 1 мг/кг в течение 30 мин каждые 14 суток в течение 48 недель; (ii) IV инфузия 3 мг/кг в течение 30 мин каждые 14 суток в течение 48 недель; (iii) инфузия 10 мг/кг в течение 30 мин каждые 14 суток в течение 48 недель; (iv) IV инфузия 0,3 мг/кг в течение 30 мин каждые 14 суток в течение 48 недель (если определяют, что MTD ниже 1 мг/кг); и (v) IV инфузия постоянной дозы 200 мг в течение 30 мин каждые 14 суток в течение 48 недель.

Комбинированная терапия.

Сопутствующую лучевую терапию, циклофосфамид, GM-CSF, карбоплатин и доцетаксел доставляют через предписание, и их использование, дозу, модификации дозы, снижения или задержки, а также любые потенциальные АЕ в результате их использования отслеживают наряду с таковыми для REGN2810.

Совместное введение REGN2810 и облучения: REGN2810 вводят посредством IV инфузии в течение 30 мин каждые 14 суток в течение 48 недель в комбинации с лечением облучением с суток 8 до суток 12. Запланированные схемы комбинации REGN2810 и лучевой терапии могут включать:

1 мг/кг REGN2810 инфузия в течение 30 мин каждые 14 суток в течение 48 недель + лучевая терапия 30 Гр (6 Гр $\times$ 5 раз/неделя; дают через 1 неделю после первой дозы REGN2810, предпочтительно в последовательные сутки),

1 мг/кг REGN2810 инфузия в течение 30 мин каждые 14 суток в течение 48 недель + лучевая терапия 27 Гр (9 Гр $\times$ 3 раза/неделя; дают через 1 неделю после первой дозы REGN2810,

предпочтительно не в последовательные сутки),

3 мг/кг REGN2810 инфузия в течение 30 мин каждые 14 суток в течение 48 недель + лучевая терапия 30 Гр (6 Гр×5 раз/неделя; дают через 1 неделю после первой дозы REGN2810, предпочтительно в последовательные сутки),

3 мг/кг REGN2810 инфузия в течение 30 мин каждые 14 суток в течение 48 недель + лучевая терапия 27 Гр (9 Гр×3 раза/неделя; дают через 1 неделю после первой дозы REGN2810, предпочтительно не в последовательные сутки).

Пациенты получают или 30 Гр, которые дают в виде 5 фракций по 6 Гр, вводимых ежедневно, начиная через 1 неделю после первой дозы REGN2810, или 27 Гр, которые дают в виде 3 фракций по 9 Гр, вводимых через день, начиная через 1 неделю после первой дозы REGN2810. Повреждение, выбранное для облучения, должно представлять собой повреждение, которое можно безопасно облучать сфокусированным облучением, при этом сохраняя индексное повреждение(я), и для него облучение в рассматриваемых ограниченных паллиативных дозах сочтут подходящим для медицинского применения.

Совместное введение REGN2810 и циклофосфамида: REGN2810 вводят посредством IV инфузии в течение 30 мин каждые 14 суток (2 недели) в течение 48 недель в комбинации с низкой дозой циклофосфамида 100 мг/м<sup>2</sup> IV инфузия каждые 14 суток 4 дозы. Каждую из 4 доз циклофосфамида вводят за 1 сутки до каждой из первых 4 доз REGN2810 (сутки -1, 14, 28 и 42 первого цикла 56 суток).

Запланированная схема комбинации REGN2810 и циклофосфамида представляет собой:

циклофосфамид 100 мг/м<sup>2</sup> или 200 мг/м<sup>2</sup> IV каждые 14 суток (сутки -1, 14, 28, и 42 первого цикла 56 суток), всего 4 дозы; +

3 мг/кг REGN2810 инфузия в течение 30 мин каждые 14 суток в течение 48 недель (предусмотрена монотерапевтическая доза 3 мг/кг < MTD; если 3 мг/кг > MTD, доза будет 1 мг/кг).

Совместное введение REGN2810, облучения и циклофосфамида: запланированная схема комбинации REGN2810, облучения и циклофосфамида включает:

циклофосфамид 100 мг/м<sup>2</sup> (низкая доза) IV каждые 14 суток (сутки -1, 14, 28, и 42 первого цикла 56 суток), всего 4 дозы; +

лучевая терапия 27 Гр (9 Гр×3 раза/неделя; дают через 7 или 8 суток после первой дозы REGN2810, предпочтительно не в последовательные сутки) или лучевая терапия 30 Гр (6 Гр×5 раз/неделя; дают через 7 или 8 суток после первой дозы REGN2810, предпочтительно в последовательные сутки); +

3 мг/кг REGN2810 инфузия в течение 30 мин каждые 14 суток в течение 48 недель (предусмотрена монотерапевтическая доза 3 мг/кг < MTD; если 3 мг/кг > MTD, доза будет 1 мг/кг).

Совместное введение REGN2810, облучения и GM-CSF: запланированная схема комбинации REGN2810, облучения и GM-CSF включает:

GM-CSF 250 мкг SC ежедневно в течение 7 суток, четыре 7-суточных интервала (сутки 1-7, 15-21, 29-35 и 43-49 первого цикла 56 суток); +

лучевая терапия 27 Гр (9 Гр×3 раза/неделя; дают через 1 неделю после первой дозы REGN2810, предпочтительно не в последовательные сутки); +

3 мг/кг REGN2810 инфузия в течение 30 мин каждые 14 суток в течение 48 недель (предусмотрена монотерапевтическая доза 3 мг/кг < MTD; если 3 мг/кг > MTD, доза будет 1 мг/кг).

Совместное введение REGN2810, облучения, GM-CSF и циклофосфамида: запланированная схема комбинации REGN2810, облучения, GM-CSF и циклофосфамида включает:

GM-CSF 250 мкг SC ежедневно в течение 7 суток, четыре 7-суточных интервала (сутки 1-7, 15-21, 29-35 и 43-49 первого цикла 56 суток); +

лучевая терапия 27 Гр (9 Гр×3 раза/неделя; дают через 1 неделю после первой дозы REGN2810, предпочтительно не в последовательные сутки); +

циклофосфамид 100 мг/м<sup>2</sup> или 200 мг/м<sup>2</sup> IV каждые 14 суток (сутки -1, 14, 28, и 42 первого цикла 56 суток), всего 4 дозы; +

3 мг/кг REGN2810 инфузия в течение 30 мин каждые 14 суток в течение 48 недель (предусмотрена монотерапевтическая доза 3 мг/кг < MTD; если 3 мг/кг > MTD, доза будет 1 мг/кг).

Совместное введение REGN2810 и доцетаксела с карбоплатином или без него: предложенная последовательность введения лекарственных средств представляет собой доцетаксел, после чего следует карбоплатин (при включении в исследование в карбоплатин-содержащую когорту), после чего следует REGN2810:

доцетаксел 30 мг/м<sup>2</sup> IV в течение приблизительно 1 ч в сутки 1, 8, 29 и 36 первого цикла 56 суток. Дексаметазон 8 мг IV вводят перед первой дозой доцетаксела. Для последующего лечения доцетакселом, премедикация дозой дексаметазона может составлять 8 мг или 4 мг, по решению исследователя карбоплатин AUC 2 IV в течение приблизительно 30 мин в сутки 1, 8, 29 и 36 первого цикла 56 суток. При дозировании карбоплатина следует использовать формулу Калверта на этикетке карбоплатина. Клиренс креатинина следует вычислять с использованием уравнения Кокфорта-Голта.

3 мг/кг REGN2810 инфузия в течение приблизительно 30 мин каждые 14 суток в течение 48 недель.

Процедуры и оценки.

Процедуры скрининга, подлежащие осуществлению, включают  $\beta$ -HCG сыворотки, MRI головного мозга и рентгенографию грудной клетки.

Процедуры безопасности включают медицинский анамнез, физикальный осмотр, показатели жизнедеятельности, электрокардиограмму (ECG), коагуляцию, анализы иммунологической безопасности (для пациентов, которых лечат REGN2810), оценку В-симптомов и оценку функционального состояния, клинические лабораторные тесты, АЕ и сопутствующую лекарственную терапию.

Процедуры эффекта, подлежащие осуществлению, для оценок опухоли включают СТ или MRI сканирование, сканирование позитронно-эмиссионной томографии с  $^{18}\text{F}$ -фтордезоксиглюкозой (FDG-PET) и/или биопсии опухоли. СТ или MRI для оценки опухоли осуществляют в скрининговый визит (в пределах 28 суток до инфузии) и во время каждого цикла (приблизительно каждые 8 недель) в сутки  $56 \pm 3$ , а также когда предполагают прогрессирование заболевания. Дополнительно, у пациентов, которые не прогрессировали в исследовании, оценки опухоли осуществляют в визиты последующего наблюдения 3, 5 и 7. Когда принимают решение использовать СТ или MRI сканирование, последующие оценки выполняют с использованием той же модальности. Оценки опухолевого ответа осуществляют в соответствии с Response Evaluation Criteria in Solid Tumors RECIST версии 1.1 (Eisenhauer et al. 2009, Eur. J. Cancer 45: 228-247). Поддающиеся измерению повреждения, выбранные в качестве целевых повреждений для измерений RECIST, также включают в качестве индексных повреждений для критериев ответа, связанных с иммунитетом (irRC; Nishino et al. 2013, Clin. Cancer Res. 19: 3936-3943). Ответ RECIST имеет приоритет в качестве статистической оценки частоты ответа. Для индивидуального пациента irRC может информировать о решении о том, продолжать ли лечение по усмотрению исследователя из-за возможности нестандартных ответов.

Берут образцы крови для оценки ПК и антител против лекарственных средств (ADA).

Переменные исследования.

Основными переменными в исследовании являются DLT заболеваемость и заболеваемость и тяжесть TEAE и аномальные лабораторные находки через 48 недель лечения.

Второстепенные переменные представляют собой:

Противоопухолевые активности, оцениваемые с использованием подходящих критериев для показания (описано в другом месте в настоящем описании):

критерии Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST; Eisenhauer et al. 2009, Eur. J. Cancer 45: 228-247), измеряемые с помощью СТ или MRI;

другие критерии оценки также используют для конкретных опухолей, для которых измерения RECIST не являются стандартом;

критерии ответа, связанные с иммунитетом (irRC; Nishino et al. 2013, Clin. Cancer Res. 19: 3936-3943), применяемые к измерениям RECIST.

Во всех случаях RECIST (или другие опухолеспецифичные критерии) представляют собой преимущественный инструмент для того, чтобы определять PD, SD, CR или PR. irRC собирают для клинических решений и информационных целей.

Заболеваемость для образования антител против REGN2810.

Противоопухолевая активность, измеряемая с помощью PFS и общей выживаемости.

Для целей этого исследования у пациентов повторно оценивают ответ каждые 8 недель. Подтверждающие сканирования также получают через 4 недели после начального документирования объективного ответа или прогрессирующего заболевания. Ответ и прогрессирование оценивают в этом исследовании с использованием международных критериев, предлагаемых руководством Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) (версия 1.1; Eisenhauer et al. 2009, Eur. J. Cancer 45: 228-247). Изменения в опухолевых повреждениях самого крупного диаметра (одномерное измерение) и самого малого диаметра в случае метастазируемых лимфатических узлов используют в критериях RECIST.

Выбор повреждений.

Поддающееся измерению заболевание: поддающиеся измерению повреждения определяют как те, которые при точном измерении по меньшей мере по одному измерению (самый длинный диаметр, подлежащий регистрации) составляют  $\geq 20$  мм ( $\geq 2$  см) с помощью рентгенографии грудной клетки или составляют  $\geq 10$  мм ( $\geq 1$  см) с помощью СТ сканирования, MRI или штангенциркуля при клиническом осмотре. Все измерения опухолей следует регистрировать в миллиметрах (или десятых долях сантиметра). Примечание: см. далее об оценке облученных целевых повреждений.

Метастазируемые лимфатические узлы: должны считать патологически увеличенными и поддающимися измерению, лимфатический узел должен составлять  $\geq 15$  мм ( $\geq 1,5$  см) по короткой оси при оценке с помощью СТ сканирования (рекомендованная толщина среза при СТ сканировании составляет не больше чем 5 мм [0,5 см]). На базовом уровне и при последующем наблюдении измеряют и отслеживают только короткую ось.

Не поддающееся измерению заболевание: все другие повреждения (или места заболевания), в том числе малые повреждения (самый длинный диаметр  $< 10$  мм [ $< 1$  см] или патологические лимфатические

узлы с короткой осью от  $\geq 10$  до  $< 15$  мм [от  $\geq 1$  до  $< 1,5$  см]), считают не поддающимся измерению заболеванием. Повреждения кости, лептоменингеальное заболевание, асцит, плевральные/перикардиальные выпоты, кожный лимфангит/пульмонит, воспалительное заболевание груди и абдоминальные массы (не отслеживаемые по СТ или MRI), рассматривают в качестве не поддающихся измерению. Примечание: кистозные повреждения, которые отвечают критериям для радиографически определяемых простых кист, не следует рассматривать в качестве метастазируемых повреждений (ни поддающихся измерению, ни не поддающихся измерению), поскольку они, по определению, представляют собой простые кисты. "Кистозные повреждения", которые предположительно представляют кистозные метастазы, можно рассматривать как поддающиеся измерению повреждения, если они подходят под определение возможности измерения, описанное выше. Однако если не кистозные повреждения присутствуют у того же пациента, они предпочтительны для выбора в качестве целевых повреждений.

Целевые повреждения: все поддающиеся измерению повреждения вплоть до максимум 2 повреждений на орган и 5 повреждений в целом, которые репрезентативны для всех вовлеченных органов, следует определять как целевые повреждения и проводить регистрацию и измерения на базовом уровне. Целевые повреждения, которые выбирают на основе их размера (повреждения с самым длинным диаметром), репрезентативны для всех вовлеченных органов, но вдобавок включают те, которые пригодны для воспроизводимых повторных измерений. Иногда это может относиться к случаю, когда самое крупное повреждение не件годно для воспроизводимого измерения, и в этом случае выбирают следующее самое крупное повреждение, которое можно измерять воспроизводимо. Сумму диаметров (самые длинные для не узловых повреждений, короткая ось для узловых повреждений) для всех целевых повреждений вычисляют и сообщают в качестве базовой суммы диаметров. Если лимфатические узлы подлежат включению в сумму, то в сумму добавляют только короткую ось. Базовую сумму диаметров используют в качестве ориентира для дальнейшего определения характеристик любого объективного регресса опухоли в поддающемся измерению измерении заболевания.

Не целевые повреждения: все другие повреждения (или места заболевания), включая любые поддающиеся измерению повреждения сверх 5 целевых повреждений, идентифицируют как не целевые повреждения и регистрируют на базовом уровне. Измерения этих повреждений не требуются, но присутствие, отсутствие или, в редких случаях, однозначное прогрессирование каждого, отмечают на всем протяжении наблюдения.

Способы оценки поддающегося измерению заболевания.

Все измерения выполняют и регистрируют в метрическом представлении с использованием линейки или штангенциркулей. Все базовые оценки осуществляют настолько близко к началу лечения, насколько возможно, и никогда больше чем за 4 недели до начала лечения. Один и тот же способ оценки и одни и те же приемы следует использовать для того, чтобы определять характеристики каждого идентифицированного и приведенного повреждения на базовом уровне и во время наблюдения. Оценку на основе визуализации предпочитают оценке с помощью клинического обследования, пока наблюдаемое повреждение(я) не станет не визуализируемым, но доступным для оценки с помощью клинического осмотра.

Клинические повреждения: клинические повреждения считают поддающимися измерению только, когда они являются поверхностными (например, кожные узелки и пальпируемые лимфатические узлы) и имеют диаметр  $\geq 10$  мм ( $\geq 1$  см), как оценивают с использованием штангенциркулей (например, кожные узелки). В случае повреждений кожи рекомендовано документирование с помощью цветной фотографии, а также линейки для того, чтобы оценивать размер повреждения.

Рентгенография грудной клетки: повреждения на рентгенографии грудной клетки являются приемлемыми, поскольку поддаются измерению повреждений, когда они четко определены и окружены легким, наполненным воздухом. Однако СТ является предпочтительной.

Стандартные СТ и MRI: это руководство имеет определенную возможность измерения повреждений при СТ сканировании, которая основана на допущении о том, что толщина среза СТ составляет 5 мм (0,5 см) или меньше. Если СТ сканирование имеет толщину среза больше чем 5 мм (0,5 см), минимальный размер повреждения, поддающегося измерению, должен быть в два раза больше толщины среза. MRI также является приемлемым в определенных ситуациях.

PET-СТ: если СТ, выполняемое в качестве части PET-СТ, имеет качество диагностирования, идентичное диагностической СТ (с IV и пероральным контрастом), то СТ часть PET-СТ можно использовать для измерений RECIST и можно использовать взаимозаменяемо со стандартной СТ при точном измерении злокачественных опухолевых повреждений с течением времени.

Ультразвук: ультразвук нельзя использовать при оценке размера повреждения и его не следует использовать в качестве способа измерения. Если новые повреждения идентифицируют посредством ультразвука в ходе исследования, рекомендовано подтверждение с помощью СТ или MRI. Если есть проблемы с экспозицией облучения при СТ, в выборочных случаях можно использовать MRI вместо СТ.

Эндоскопия, лапароскопия: использование этих способов в целях оценки опухоли не рекомендовано. Однако такие способы можно использовать для того, чтобы подтверждать полный патологический

ответ, когда получают биоптаты, или чтобы определять рецидив в исследованиях, где рецидив после полного ответа (CR) или хирургической резекции является конечной точкой.

Опухолевые маркеры: опухолевые маркеры нельзя использовать отдельно для того, чтобы оценить ответ. Если маркеры изначально выше верхнего предела нормы, их следует нормализовать для пациента, которого считают находящимся в полном клиническом ответе.

Цитология, гистология: эти способы можно использовать для дифференциации между частичными ответами (PR) и полными ответами (CR) в редких случаях (например, остаточные повреждения в опухолях определенных типов, таких как опухоли из половых клеток, где могут сохраняться известные остаточные доброкачественные опухоли). Цитологическое подтверждение неопластического происхождения любого экссудата, который возникает или ухудшается во время лечения, когда поддающаяся измерению опухоль отвечает критериям ответа или стабильного заболевания, необходимо для дифференциации между ответом или стабильным заболеванием (экссудат может представлять собой побочный эффект лечения) и прогрессирующим заболеванием.

FDG-PET: хотя оценки ответа FDG-PET требуют дополнительного исследования, иногда есть смысл включать использование FDG-PET сканирования, чтобы дополнять СТ сканирование при оценке прогрессирования (в частности, возможного "нового" заболевания). Новые повреждения на основе FDG-PET визуализации можно идентифицировать в соответствии со следующим алгоритмом: а. Отрицательная FDG-PET на базовом уровне, с положительной FDG-PET при наблюдении является признаком PD на основе нового повреждения. б. Отсутствие FDG-PET на базовом уровне и положительная FDG-PET при наблюдении: если положительная FDG-PET при наблюдении соответствует новому месту заболевания, подтвержденному с помощью СТ, это является PD. Если положительную FDG-PET при наблюдении не подтверждают в качестве нового места заболевания на СТ, необходимы дополнительные наблюдательные СТ сканирования для того, чтобы определять, если имеет место истинное прогрессирование, возникшее в этом месте (если так, дата PD будет датой начального аномального FDG-PET сканирования). Если положительная FDG-PET при наблюдении соответствует уже существующему месту заболевания на СТ, которое не прогрессирует, на основе анатомических изображений, это не является PD. с. FDG-PET можно использовать для обновления ответа до CR таким образом, который схож с биопсией, в случаях, когда полагают, что остаточное радиографическое отклонение от нормы представляет фиброз или рубцевание. Использование FDG-PET в этом случае следует заранее описывать в протоколе и подтверждать медицинской литературой о конкретном заболевании для данного показания. Однако следует признать, что оба подхода могут вести к ложноположительному CR из-за ограничений FDG-PET и разрешения/чувствительности биопсии. Примечание: "положительное" повреждение при FDG-PET сканировании обозначает то, в котором тропность FDG к захвату больше чем в два раза превышает таковую в окружающей ткани на изображении с коррекцией ослабления. Критерии ответа для оценки целевых повреждений Полный ответ (CR): исчезновение всех целевых повреждений. Любые патологические лимфатические узлы (будь они целевыми или не целевыми) должны иметь уменьшение по короткой оси до <10 мм (<1 см).

Частичный ответ (PR): по меньшей мере 30% снижение суммы диаметров целевых повреждений, если принимать в качестве эталона базовую сумму диаметров.

Прогрессирующее заболевание (PD): по меньшей мере 20% увеличение суммы диаметров целевых повреждений, если брать в качестве эталона наименьшую сумму в исследовании (это включает базовую сумму, если она является наименьшей в исследовании). В дополнение к относительному увеличению 20%, сумма также должна демонстрировать абсолютное увеличение по меньшей мере на 5 мм (0,5 см). (Примечание: возникновение одного или нескольких новых повреждений также считают прогрессирующим).

Стабильное заболевание (SD): ни достаточного уменьшения для квалификации в качестве PR, ни достаточного увеличения для квалификации в качестве PD, если брать в качестве эталона наименьшую сумму диаметров в исследовании.

Критерии ответа для оценки не целевых повреждений.

Полный ответ (CR): исчезновение всех не целевых повреждений и нормализация уровня опухолевого маркера. Все лимфатические узлы должны иметь не патологический размер (<10 мм [<1 см] по короткой оси). Примечание: если опухолевые маркеры изначально выше верхнего предела нормы, их следует нормализовать для пациента, которого считают находящимся в полном клиническом ответе.

Не CR/Не PD: персистенция одного или нескольких не целевых повреждений и/или сохранение уровня опухолевого маркера выше нормальных пределов.

Прогрессирующее заболевание (PD): возникновение одного или нескольких новых повреждений и/или однозначное прогрессирование существующих не целевых повреждений.

Однозначное прогрессирование в целом не должно превосходить состояние целевого повреждения. Оно должно быть репрезентативно для общего изменения состояния заболевания, а не увеличения одного повреждения.

Критерии ответа, связанные с иммунитетом.

Критерии ответа, связанные с иммунитетом, отличаются от RECIST (версия 1.1) в отношении сум-

мы самых длинных диаметров всех целевых повреждений и новых повреждений, если любое используют для того, чтобы определять ответ. Присутствие новых повреждений *per se* не определяет прогрессирование; считают общую опухолевую нагрузку.

Оценка целевых повреждений.

Полный ответ (CR): исчезновение всех целевых повреждений. Любые патологические лимфатические узлы (будь они целевыми или не целевыми) должны иметь уменьшение по короткой оси до <10 мм (<1 см).

Частичный ответ (PR): меньшей мере 30% уменьшение суммы диаметров целевых повреждений, в том числе новых повреждений, если брать в качестве эталона базовую сумму диаметров.

Прогрессирующее заболевание (PD): по меньшей мере 20% увеличение суммы диаметров целевых повреждений, в том числе новых повреждений, если брать в качестве эталона наименьшую сумму в исследовании (это включает базовую сумму, если она является наименьшей в исследовании). В дополнение к относительному увеличению 20%, сумма также должна демонстрировать абсолютное увеличение по меньшей мере на 5 мм (0,5 см).

Стабильное заболевание (SD): ни достаточного уменьшения для квалификации в качестве PR, ни достаточного увеличения для квалификации в качестве PD, если брать в качестве эталона наименьшую сумму диаметров в исследовании, включая измерения новых повреждений.

Оценка не целевых повреждений.

Полный ответ (CR): исчезновение всех не целевых повреждений и нормализация уровня опухолевого маркера. Все лимфатические узлы должны иметь непатологический размер (<10 мм [ $<1$  см] по короткой оси). Примечание: если опухолевые маркеры изначально выше верхнего предела нормы, их следует нормализовать для пациента, которого считают находящимся в полном клиническом ответе.

Не CR/Не PD: персистенция одного или нескольких не целевых повреждений и/или сохранение уровня опухолевого маркера выше нормальных пределов.

Прогрессирующее заболевание (PD): однозначное прогрессирование существующих не целевых повреждений.

Однозначное прогрессирование в целом не должно превосходить состояние целевого повреждения. Оно должно быть репрезентативно для общего изменения состояния заболевания, а не увеличения одного повреждения. Несмотря на то что явное прогрессирование "не целевых" повреждений является только исключением, мнение лечащего врача должно преобладать в таких обстоятельствах, и состояние прогрессирования следует подтверждать в более позднее время.

Оценка критериев общего ответа.

Наилучший общий ответ представляет собой наилучший ответ, зарегистрированный с начала лечения до прогрессирования заболевания/рецидива (если брать в качестве эталона для прогрессирующего заболевания наименьшие измерения, зарегистрированные с начала лечения). Присвоение наилучшего ответа пациенту зависит от выполнения как критериев измерения, так и критериев подтверждения. Revised Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) версии 1.1 (Eisenhauer et al. 2009, Eur. J. Cancer 45: 228-247) и критерии ответа, связанные с иммунитетом, (irRC; Nishino et al. 2013, Clin. Cancer Res. 19: 3936-3943) сведены далее в табл. 10 и 11.

Таблица 10

Ответ в соответствии с Revised RECIST (версия 1.1)

Целевые повреждения	Не целевые повреждения	Новые повреждения	Общий ответ	Наилучший общий ответ, когда необходимо подтверждение
CR	CR	Нет	CR	Подтверждение $\geq 4$ недель
CR	Не CR/Не PD	Нет	PR	Подтверждение $\geq 4$ недель
CR	Не оценивали	Нет	PR	Подтверждение $\geq 4$ недель
PR	Не CR/Не	Нет	PR	Подтверждение

	PD/не оценивали			≥4 недели
SD	Не CR/Не PD/не оценивали	Нет	SD	Документировал и по меньшей мере один раз через ≥4 недели от базового уровня
PD	Любое	Да или нет	PD	Нет предыдущего SD, PR или CR
Любое	PD	Да или нет	PD	Нет предыдущего SD, PR или CR
Любое	Любое	Да	PD	Нет предыдущего SD, PR или CR

CR: полный ответ;  
 PD: прогрессирующее заболевание;  
 PR: частичный ответ;  
 SD: стабильное заболевание.

Таблица 11

## Оценка критериев ответа, связанных с иммунитетом

Целевые повреждения	Не целевые повреждения	Новые повреждения	Общий ответ	Наилучший общий ответ, когда необходимо подтверждение
CR	CR	Нет	CR	Подтверждение ≥4 недель
CR	Не CR/Не PD	Нет	PR	Подтверждение ≥4 недель
CR	Не оценивали	Нет	PR	Подтверждение ≥4 недель
PR	Не CR/Не PD/не оценивали	Да или нет	PR	Подтверждение ≥4 недель
SD	Не CR/Не PD/не оценивали	Да или нет	SD	Документировал и по меньшей мере один раз через ≥4 недели от базового уровня
PD	Любое	Да или нет	PD	Нет предыдущего SD, PR или CR
Любое	PD	Да или нет	PD	Нет предыдущего SD, PR или CR

CR: полный ответ;  
 PD: прогрессирующее заболевание;  
 PR: частичный ответ;  
 SD: стабильное заболевание.

Оценка облученных целевых повреждений.

Облученные целевые повреждения оценивают с использованием модифицированной версии международных критериев, предложенных Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) Committee, версия 1.1. Дополнительные определения сверх руководства RECIST 1.1, специфичные для этого протокола, включены для того, чтобы определять локальный контроль.

Критерии ответа для облученных повреждений представляют собой следующее.

Локальное увеличение (LE): по меньшей мере 20% увеличение LD целевого повреждения, если брать в качестве эталона наименьший LD, зарегистрированный с начала лечения. Идеально выполнять это определение на основе оценки СТ изображения.

Локальная безуспешность (LF): относится к первичному лечению опухоли после терапии по протоколу и соответствует выполнению обоих из следующих двух критериев: (1) увеличение измерения опухоли на 20%, как определено выше для локального увеличения (LE); (2) поддающаяся измерению опухоль, отвечающая критериям LE, должна быть склонна к визуализации позитронно-эмиссионной томографией (PET) с захватом схожей интенсивности в качестве определения стадии на PET до лечения, или следует получать биоптат поддающейся измерению опухоли, подтверждающий жизнеспособную карциному.

Локальный контроль (LC): отсутствие локальной безуспешности.

Самый длинный диаметр (LD) для облученного целевого повреждения, вычисленный по СТ сканированию при планировании лечения, с использованием подходящего тканеспецифического окна, приводят в качестве базового LD. Базовый LD используют в качестве эталона, с помощью которого определяют характеристики целевой опухоли. Для оценки при последующем наблюдении диагностические СТ сканирования, которые выполняли с использованием 5 мм алгоритма сплошной реконструкции, используя легочное окно, взятое в качестве части запланированного наблюдения по протоколу, предпочтительны в качестве способа оценки ответа. Когда СТ сканирование не доступно, допустимо MRI или рентгеновское определение до тех пор, пока целевое повреждение четко видно.

Результаты.

REGN2810 отдельно и в комбинации является безопасным и хорошо переносимым для пациентов. Введение REGN2810 отдельно или в комбинации с другими модальностями лечения ингибирует опухолевый рост и/или способствует регрессу опухоли у пациентов с распространенными солидными опухолями. Общая частота ответа лучше для комбинированной терапии с облучением по сравнению с монотерапией.

На данный момент лечили 60 пациентов с распространенными солидными злокачественными новообразованиями (47% с четырьмя или больше предшествующими терапиями). Распространенные солидные злокачественные новообразования включают злокачественную опухоль толстой кишки, злокачественную опухоль головы и шеи, злокачественную опухоль молочной железы, саркому мягких тканей, злокачественную опухоль надпочечника, злокачественную опухоль ануса, злокачественную опухоль аппендикса, злокачественную опухоль мочевого пузыря, злокачественную опухоль шейки матки, злокачественную опухоль эндометрия, злокачественную опухоль пищевода, злокачественную опухоль печени, немелкоклеточную аденокарциному легких, злокачественную опухоль яичников, злокачественную опухоль поджелудочной железы, злокачественную опухоль предстательной железы, саркоматоид почки, злокачественную опухоль слюнной железы, немеланомную злокачественную опухоль кожи, карциному из клеток Меркеля, плоскоклеточную карциному, базальноклеточную карциному, злокачественную опухоль тонкой кишки, злокачественную опухоль щитовидной железы и злокачественную опухоль матки.

42 пациента (70%) испытывали одно или несколько нежелательных явлений (AE), связанных с лечением. Наиболее распространенные AE, связанные с лечением, представляют собой утомление (28,3%), артралгию (11,7%) и тошноту (11,7%). Из 60 пациентов, которых оценивали на опухолевые ответы, имело место 11 (18,3%) объективных ответов (PR/CR), тогда как 31 пациент (51,7%) демонстрировал контроль заболевания (CR/PR/SD). У 36 пациентов, которые получали комбинированную терапию, содержащую лучевую терапию, объективный ответ наблюдали у 6 пациентов (16,7%) и контроль заболевания у 19 пациентов (52,8%). У 24 пациентов, которые не получали лучевую терапию, объективный ответ наблюдали у 5 пациентов (20,8%) и контроль заболевания наблюдали у 12 пациентов (50%). В табл. 12 приведена сводка по пациентам, ответившим на лечение.



Таблица 12

## Сводка по пациентам, ответившим на лечение

ID индивида	Когорты по дозе	Тип злокачественной опухоли	№ предыдущих линий терапии	Наилучший ответ	Наилучший % снижения
41	R2810: 1 мг/кг	Холангиокарцинома	5	PR	-41,2
50	R2810: 1 мг/кг	Плоскоклеточная карцинома кожи	2	CR	-100,0
43	R2810: 10 мг/кг	Саркома мягких тканей	5	PR	-49,1
37	R2810: 10 мг/кг	Базальноклеточная карцинома	1	PR	-36,7
36	R2810: 3 мг/кг+CPA: 200 мг/м <sup>2</sup>	Саркома мягких тканей	5	PR	-33,3
47	R2810: 1 мг/кг+XRT: 6 Гр × 5	Плоскоклеточная карцинома шейки матки	4	PR	-66,7
46	R2810: 1 мг/кг+XRT: 9 Гр × 3	Плоскоклеточная карцинома ануса	3	PR	-57,1
49	R2810: 1 мг/кг+XRT: 9 Гр × 3	Плоскоклеточная карцинома шейки матки	3	CR	-100,0
48	R2810: 3 мг/кг+XRT: 6 Гр × 5	Карцинома из клеток Меркеля	1	PR	-72,5
42	R2810: 3 мг/кг+XRT: 6 Гр × 5	Аденокарцинома тонкой кишки	2	PR	-46,7
44	R2810: 3 мг/кг+XRT: 9 Гр × 3	Серозная карцинома яичника	6	PR	-52,4

Среди пациентов, ответивших на лечение, медианное время до ответа для монотерапии составляло 113 суток (диапазон 52-226) и для пациентов с лучевой терапией составляло 59 суток (диапазон 56-113).

Пример 8. Описания случаев блокирования PD-1 моноклональным антителом REGN2810 с достижением устойчивых объективных ответов при метастатических немеланомных злокачественных опухолях кожи: базальноклеточная карцинома и плоскоклеточная карцинома кожи.

## Введение.

Базальноклеточная карцинома (BCC) и плоскоклеточная карцинома кожи (CSCC) имеют экспозицию для UV света в качестве основного фактора риска, и, следовательно, эти опухоли гипермутированы (Chalmers et al. 2016, AACR Ann. Meeting, Abs 3576). В других злокачественных новообразованиях большая мутационная нагрузка связана с клинической пользой терапии антителами, направленными против иммунной контрольной точки PD-1 [Le et al. 2015, New Engl. J. Med. May 30 (электронная публикация перед печатью)]. Сильно мутированные опухоли более вероятно экспрессируют иммуногенные опухолевые неоантигены, которые привлекают эффекторные Т-клетки, которым можно давать волю посредством блокирования иммунной контрольной точки PD-1 (Mandal and Chan 2016, Cancer Discov. 6: 1-12). В этом примере описан пациент с метастатической BCC и пациент с метастатической CSCC, которых лечили с использованием REGN2810, моноклонального антитела полностью человека против PD-1 в текущей фазе 1 исследования (NCT02383212; описано в примере 7 в настоящем описании).

## Описание случая 1.

Пациент в возрасте 66 лет, женщина, у которой диагностировали стадию 1 BCC, возникшую на левой части подбородка, которую иссекали в хирургической операции Моса. Локализованный рецидив в том же местоположении идентифицировали через 2 года, и обширное локальное иссечение обнаружило инвазию в левую нижнюю челюсть с вовлечением одного из 18 лимфатических узлов. Пациент получал вспомогательное облучение и оставался в ремиссии в течение 4 лет, когда увеличивающиеся узлы в легких, которые наблюдали на визуализации грудной клетки при наблюдении, подвергали биопсии и подтверждали присутствие метастатической BCC. Пациент впоследствии получал ингибитор пути Hedgehog

(НИ) висмодегиб в течение 5 месяцев. Изначально она отвечала, но перестала по причине прогрессирующего заболевания.

Через 6 месяцев после терапии висмодегибом и при продолжающемся медленном прогрессировании пациента включили в фазу 1 исследования REGN2810 в когорту, получающую 10 мг/кг IV каждые 2 недели, и она получила свою первую дозу. Два легочных метастаза наблюдали в качестве целевых повреждений. Оценки ответа в конце 8 недель (3% увеличение) и 16 недель (10% снижение) демонстрировали стабильное заболевание по критериям RECIST. Оценка ответа в конце 24 недель демонстрировала снижение измерений опухолей на 37% (фиг. 14А), и это подтверждали на 32 неделе. Пациент хорошо переносил лечение и продолжает REGN2810, на лечении в течение 10+ месяцев.

Описание случая 2.

Пациент в возрасте 52 лет, мужчина, у которого диагностировали плоскоклеточную карциному кожи на левой щеке. Он прошел хирургическую операцию Моса с чистыми краями. Он показывал несколько рецидивов и прошел по меньшей мере 9 дополнительных хирургических операций Моса. Он подвергся обширному локальному иссечению поверх левой нижней челюсти 4-мя годами позже и впоследствии левой паротидэктомии через 20 месяцев. Также вспомогательную лучевую терапию вводили в левую щеку, нижнюю челюсть слева, шею слева (с параллельным цетуксимабом) и шею билатерально (с параллельным карбоплатином). Другая системная терапия представляла собой капецитабин и цисплатин+доцетаксел. Через 10 лет после начального диагноза он подвергся иссечению с чистыми краями для 2,2 см рецидива в рубце на шее слева. Впоследствии, инвазивная CSCC на телах позвонков C4-C5 сделала необходимой декомпрессию шейного отдела спинного мозга с передней корпэктомией C4-C5 и задней ламинэктомией C4-C6. Также у него развилась слабость мышц нижних конечностей, предположительно обусловленная вовлечением оболочек нервов, которая требовала использования ходунков для ходьбы.

Его включали в фазу 1 исследования в первую когорту, получающую 1 мг/кг REGN2810 каждые две недели. В пределах недель от начала лечения постепенно к нему возвращалась сила нижних конечностей и ему более не требовалось использовать ходунки. Ответ на неделе 16 показан на фиг. 14В. Полный радиологический ответ повреждения на шее слева достигали на неделе 40. Пациент завершил запланированные 48 недель протокола лечения с использованием REGN2810. Он продолжает тесное активное наблюдение у своего медицинского онколога без клинических или радиографических свидетельств рецидива заболевания.

Обсуждение.

В этом примере раскрыт первый подтвержденный частичный ответ у пациента с метастатической ВСС, которого лечили ингибитором PD-1 (REGN2810), а также текущий устойчивый полный ответ у пациента с метастатической CSCC. Глубокие и длительные ответы этих пациентов с тяжелым предварительным лечением на монотерапию против PD-1 в этой фазе 1 исследования соответствуют гипотезе о том, что большая мутационная нагрузка при ВСС и CSCC будет вызывать противоопухолевый клеточный иммунитет, которому можно давать волю посредством блокирования пути контрольной точки PD-1/PD-L1.

Этот пример подтверждает основной принцип, что УФ-ассоциированные злокачественные опухоли кожи, кроме меланомы, чувствительны к блокированию PD-1. Редукционистская модель предсказывает, что УФ-ассоциированные опухоли с более высокой нагрузкой не синонимичных мутаций будут более чувствительны к блокированию PD-1, чем те, у которых более низкая мутационная нагрузка.

Пример 9. Безопасность и эффект антитела против PD-1 у пациентов с не резектабельной местно распространенной или метастатической плоскоклеточной карциномой кожи (CSCC).

Предпосылки.

Не существует устоявшегося стандарта лечения для не резектабельной местно распространенной или метастатической CSCC. Из-за УФ-индуцированного повреждения ДНК большинство CSCC являются гипермутированными. Следовательно, эти опухоли могут отвечать на блокирование контрольной точки PD-1. В этом примере описанные пациенты с местно распространенной или метастатической CSCC, которых лечили с использованием REGN2810, моноклонального антитела полностью человека против PD-1, в текущей фазе 1 исследования (NCT02383212; описано в примере 7 в настоящем описании).

Способы.

В когорты экспансии (ЕС) в фазе 1 исследования REGN2810 вводили пациентов с отдаленной метастатической CSCC (ЕС 7) и местно распространенной CSCC (ЕС 8) (табл. 9). Все пациенты получали 3 мг/кг REGN2810 в вену каждые 2 недели в течение вплоть до 48 недель. Исследования биопсий осуществляли на базовом уровне и в сутки 29 (и при прогрессировании, если возможно). Для того чтобы определять общую частоту ответа, измерения опухолей осуществляли каждые 8 недель в соответствии с RECIST 1.1.

Результаты.

Вводили 25 пациентов (10 в ЕС 7 и 15 в ЕС 8): медианный возраст 72,5 л (диапазон 56-88 л); медианн. PS 1 (диапазон 0-1); 20М:5Ж; медианное число предшествующих схем системной терапии 1 (диапазон 0-3). Медианная экспозиция REGN2810 составляла 6 доз (диапазон 1-22). Наиболее распространенными нежелательными явлениями любой степени, связанными с лечением, были утомление (16,7%),

тошнота, артралгия и сыпь (8,3% каждое). Каждое из следующих нежелательных явлений (АЕ), связанных со степенью  $\geq 3$ , возникало один раз: повышение AST, повышение ALT, артралгия и сыпь.

Общая частота ответа (uPR+PR+CR) и частота контроля заболевания (ORR+SD) составляли 48% (11/23; 3uPR, 5 PR, 2 CR, 1 uCR) и 70% (16/23, в том числе 5 SD), соответственно. Два пациента до сих пор не поддаются оценке. Вычисляли медианную PFS и медианную OS и только один пациент переносил PD во время лечения REGN2810 после начального ответа. Корреляционные научные исследования находятся в процессе, в том числе секвенирование полного экзона ДНК опухоли.

**Заключение.**

REGN2810 демонстрирует устойчивую противоопухолевую активность у пациентов с распространенной CSCC.

**Пример 10.** Клиническое исследование антитела против PD-1 в комбинации с гипофракционированной лучевой терапией в сравнении со стандартом лечения у пациентов в возрасте  $\geq 65$  лет со вновь диагностированной глиобластомой.

**Введение.**

Глиобластома представляет собой смертельное заболевание с медианной выживаемостью приблизительно 16 месяцев у вновь диагностированных пациентов (nGBM) и приблизительно 9 месяцев в условиях рецидива (rGBM) (Friedman et al., 2009, J. Clin. Oncol. 27: 4733-4740). Существующий стандарт лечения пациентов со вновь диагностированной глиобластомой представляет собой облучение (60 Гр за 6 недель) с параллельным темозоломидом (TMZ), после чего следует вспомогательный темозоломид (Stupp et al., 2005, N. Engl. J. Med. 352: 987-996), несмотря на то, что анализ подгрупп показывает, что добавление темозоломида может не улучшать эффект у более пожилых индивидуумов (Laperriere et al., 2013, Cancer Treat. Rev. 39: 350-357).

В этом примере описана фаза 3 исследования для оценки эффекта антитела против PD-1 в комбинации с гипофракционированной лучевой терапией (hfRT) в сравнении со стандартом лечения (SoC) в отношении общей выживаемости у пациентов в возрасте  $\geq 65$  лет с nGBM.

Образцовое антитело против PD-1, используемое в этом исследовании, представляет собой REGN2810 (также известное как H4H7798N, как раскрыто в US20150203579), моноклональное антитело полностью человека против PD-1, содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, содержащую SEQ ID NO: 1/2; и последовательности CDR тяжелых и легких цепей, содержащие SEQ ID NO: 3-8.

**Цели исследования.**

Основная цель исследования состоит в том, чтобы оценивать эффект в отношении общей выживаемости (OS) для REGN2810, который дают в комбинации с hfRT, в сравнении со стандартом лечения для пациентов в возрасте  $\geq 65$  лет с nGBM.

Второстепенная цель исследования состоит в том, чтобы определять улучшение выживаемости без прогрессирования (PFS).

Другие цели исследования представляют собой: (i) улучшение частоты объективного ответа (ORR), длительности ответа и длительности контроля заболевания; (ii) клиническая оценка с использованием шкалы Neurologic Assessment in Neuro-Oncology (NANO); (iii) безопасность; (iv) улучшение качества жизни (QoL) и психического статуса; (v) изменения отеков и использования стероидов; (vi) концентрация REGN2810 в сыворотке и антитела против REGN2810; и (vii) исследование потенциальных фармакодинамических, предсказательных или прогностических биологических маркеров.

**План исследования.**

Это представляет собой 2:1 рандомизированную фазу 3 исследования REGN2810, антитело полностью человека к PD-1, в комбинации с гипофракционированной лучевой терапией в сравнении со стандартом лечения у пациентов в возрасте  $\geq 65$  лет со вновь диагностированной глиобластомой. Пациентов рандомизируют на REGN2810 в комбинации с гипофракционированной лучевой терапией в сравнении со стандартом лечения в соотношении 2:1 с использованием статуса метилирования (метилированный против неметилированного против не определенного) и степени резекции (частичная против массовой тотальной резекции) в качестве факторов стратификации. Эффект оценивают по общей выживаемости.

Пациентов с nGBM, которые являются кандидатами на лучевую терапию, рандомизируют в соотношении 2:1 для того, чтобы принимать одно из следующих лечений:

исследовательская терапия: 3 мг/кг REGN2810 IV (каждые 2 недели)+гипофракционированная RT (6 Гр $\times$ 5, только вторая неделя). Лучевую терапию предоставляют на неделе 2 цикла 1, но не в последующих циклах;

сравнительная терапия: стандарт лечения TMZ (орально, 75 мг/м<sup>2</sup>, ежедневно) в комбинации со стандартной RT (5 ежедневных фракций облучения/неделя по 2 Гр) в течение 6 недель, после чего следует вспомогательный TMZ (орально, от 150 до 200 мг/м<sup>2</sup> 5 суток/28 суток) в течение 6 циклов. Лучевую терапию предоставляют только в первом 6-недельном цикле.

Длительность исследования.

Исследование состоит из 28-суточного периода скрининга, после которого подходящие пациенты могут иметь вплоть до двенадцати 56-суточных (8-недельных) циклов лечения в течение вплоть до всего 96 недель лечения. Во время периода скрининга (от суток -28 до суток -1), все подходящие пациенты должны иметь доступную резекцию опухоли до лечения (частичная или полная резекция) или биопсию для централизованного подтверждения патологии и определения и подтверждения метилирования MGMT.

После суток 1/базовый уровень, пациенты возвращались в клинику во время цикла 1 в сутки  $8\pm 3$ ,  $15\pm 3$ ,  $29\pm 3$ ,  $43\pm 3$  и  $56\pm 3$ . В каждом последующем 8-недельном цикле (циклы 2-12) пациенты возвращались в клинику в сутки 1,  $15\pm 3$ ,  $29\pm 3$ ,  $43\pm 3$  и  $56\pm 3$ . Оценки опухоли (MRI головного мозга, оценки iRANO и NANO, опросники MMSE и EORTC QLQ-C30/BN20) выполняли в сутки 1/базовый уровень и в конце каждого цикла лечения. Расширенные оценки безопасности проводят в сутки 1 каждого цикла; стандартные оценки безопасности проводят при каждом визите. Также берут образцы для оценки биологических маркеров (клеточные и молекулярные, описанные в настоящем описании), которые связаны с экспозицией при лечении REGN2810, клинической активностью или основным заболеванием.

Во время 24-недельного периода наблюдения пациенты возвращаются в клинику на 21-42 сутки после последнего исследуемого лечения для первого визита последующего наблюдения. Следующие визиты последующего наблюдения (с визита последующего наблюдения 2 до визита последующего наблюдения 7) происходят каждые 28 суток  $\pm 7$  суток. Оценки опухоли (MRI головного мозга, оценки iRANO и NANO, опросники MMSE и EORTC QLQ-C30/BN20) выполняют при визите последующего наблюдения 3, визите последующего наблюдения 5 и визите последующего наблюдения 7. Расширенные оценки безопасности проводят во время первого визита последующего наблюдения; стандартные оценки безопасности проводят в следующие визиты последующего наблюдения. Берут образцы для оценки биологических маркеров (клеточные и молекулярные, описанные в настоящем описании), которые связаны с экспозицией при лечении REGN2810, клинической активностью или основным заболеванием.

Целевая популяция.

Целевая популяция включает пациентов в возрасте  $\geq 65$  лет с nGBM.

Критерии включения: пациент должен отвечать следующим критериям, чтобы подходить для включения в исследование: (1) вновь диагностированная первичная глиобластома с гистологическим подтверждением, максимальный диаметр  $\leq 5$  см, прошел частичную или полную хирургическую резекцию; (2) функциональное состояние по Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 0-2; (3) возраст  $\geq 65$  лет; (4) функция печени: (a) общий билирубин  $\leq 1,5 \times$  верхний предел нормы; (b) ALT и AST  $\leq 3 \times$  ULN; (c) щелочная фосфатаза (ALP)  $\leq 2,5 \times$  ULN; (5) функция почек: креатинин сыворотки  $\leq 1,5 \times$  ULN; (6) функция костного мозга: гемоглобин  $\geq 9,0$  г/дл; абсолютное число нейтрофилов (ANC)  $\geq 1,5 \times 10^9$ /л; число тромбоцитов  $\geq 75 \times 10^9$ /л; (7) способен прочесть, понять и захотеть подписать ICF; и (8) способность и готовность выполнять запланированные визиты, план лечения, лабораторные тесты и другие процедуры, связанные с исследованием.

Критерии исключения: пациентов, которые отвечают любым из следующих критериев, следует исключать из исследования: (1) любое предшествующее лечение GBM (отличное от хирургического вмешательства); (2) имеет известные противопоказания к Gd-MRI; (3) текущие или недавние (в пределах 5 лет) свидетельства значимого аутоиммунного заболевания, которое требовало лечения с использованием системного иммуносупрессорного лечения, что может указывать на риск нежелательных явлений, связанных с иммунитетом (iGAE). Следующее не является ограничением: витилиго, детская астма, которая разрешилась, остаточный гипотиреозидизм, который требует только заместительной гормональной терапии, или псориаз, который не требует системного лечения. (4) Текущее лечение системными кортикостероидами, за исключением использования кортикостероидов по другим (не опухолевым и не иммуносупрессорным) показаниям максимум вплоть до 10 мг/сутки преднизона или эквивалента. (5) Первичные опухоли, расположенные в стволе головного мозга, спинном мозге, или любая вторая активная инфекция при опухоли головного мозга, требующая терапии, в том числе известная инфекция вируса иммунодефицита человека, или активная инфекция вируса гепатита В или гепатита С. (6) пневмонит в анамнезе в пределах последних 5 лет. (7) Любое исследовательское или противоопухолевое лечение в пределах 30 суток до начального введения REGN2810. (8) В анамнезе документированные аллергические реакции или острая реакция гиперчувствительности, которую отнесли к лечению с использованием терапии антителами в целом или к средствам, конкретно используемым в исследовании. (9) Гипертензия, контролируемая в недостаточной мере (определяют как систолическое кровяное давление  $> 150$  мм рт. ст. и/или диастолическое кровяное давление  $> 100$  мм рт. ст.). (10) Известная аллергия на доксициклин или тетрациклин (предосторожность из-за присутствия следовых компонентов в REGN2810). (11) В предшествующем анамнезе гипертензивного криза или гипертензивной энцефалопатии. (12) В анамнезе за последние 5 лет инвазивное злокачественное новообразование, отличное от того, которое лечат в этом исследовании, за исключением подвергшейся резекции/абляции базальной или сквамозноклеточной карциномы кожи или карциномы шейки матки *in situ* или других локальных опухолей, которые рассматривают

как излечимые с помощью локального лечения. (13) Острые или хронические психиатрические проблемы, которые, по оценке исследователя, делают пациента неподходящим для участия. (14) Использование Novocure Tumor Treating Fields (устройство Optune NovoTTF-100A) при скрининге. Запланированное или предполагаемое использование Novocure Tumor Treating Fields во время участия в исследовании. (15) Предшествующее лечение с использованием кармустиновых пластин. (16) Продолжающаяся половая активность у мужчин, которые не желают соблюдать достаточную контрацепцию во время исследования.

Исследуемые лечения.

Пациенты получают одну из следующих схем лечения:

Исследовательская терапия: 3 мг/кг REGN2810 (вводят IV инфузию в течение 30 мин каждые 2 недели в течение вплоть до 96 недель) + hfRT в неделю 2 цикла 1.

Сравнительная терапия: стандарт лечения TMZ (орально, 75 мг/м<sup>2</sup>, ежедневно) в комбинации со стандартной RT (5 ежедневных фракций облучения/неделя по 2 Гр) в течение 6 недель, после чего следует вспомогательный TMZ (орально, от 150 мг/м<sup>2</sup> до 200 мг/м<sup>2</sup> 5 суток/28 суток) в течение 6 циклов. Лучевую терапию предоставляют только в первом цикле.

REGN2810 поставляют в виде жидкости в стерильных флаконах одноразового использования. Каждый флакон содержит объем, достаточный, чтобы набрать 10 мл REGN2810 в концентрации 25 мг/мл. REGN2810 вводят в виде IV инфузии 30 мин. Доза каждого пациента зависит от индивидуальной массы тела. Дозу REGN2810 следует корректировать каждый цикл по изменениям массы тела  $\geq 10\%$ .

Лучевая терапия: пациенты в контрольной группе получают стандартную лучевую терапию (60 Гр за 6 недель). Пациенты в группе экспериментального лечения получают hfRT (6 Гр  $\times$  5 ежедневных фракций), которую вводят через 1 неделю после первой дозы REGN2810.

REGN2810+облучение (исследовательское лечение): REGN2810 вводят посредством IV инфузии в течение 30 мин каждые 14 суток в течение 96 недель в комбинации с hfRT с суток 8 до суток 12.

Схема запланированной комбинации REGN2810 и hfRT: инфузия REGN2810 3 мг/кг в течение 30 мин каждые 14 суток в течение 96 недель - лучевая терапия (hfRT по 6 Гр  $\times$  5 ежедневных фракций; дают через 1 неделю после первой дозы REGN2810, предпочтительно в последовательные сутки).

Описание лучевой терапии: пациенты получают 30 Гр в виде 5 фракций по 6 Гр, вводимых ежедневно, начиная через 1 неделю после первой дозы REGN2810.

Группа сравнительной терапии: стандарт лечения: TMZ (орально, 75 мг/м<sup>2</sup>, ежедневно) в комбинации со стандартной RT (5 ежедневных фракций облучения/неделя по 2 Гр) в течение 6 недель, после чего следует вспомогательный оральный TMZ. Доза TMZ составляет 150 мг/м<sup>2</sup> в течение первых 5 суток первого вспомогательного цикла, и ее увеличивают 200 мг/м<sup>2</sup> в течение 5 суток/28 суток, начиная со второго цикла, если отсутствует неприемлемая гематологическая токсичность в первом вспомогательного цикла.

Если во время первого вспомогательного цикла вся наблюдаемая не гематологическая токсичность имеет степень  $\leq 2$  (за исключением алопеции, тошноты и рвоты) и тромбоциты составляют  $\geq 100 \times 10^9$ /л и  $ANC \geq 1,5 \times 10^9$ /л, то дозу TMZ следует поднимать до уровня дозы 1 (200 мг/м<sup>2</sup>) и эту дозу следует использовать в качестве начальной дозы для последующих циклов. Если после цикла 1 TMZ следует задерживать по причине текущей не гематологической токсичности степени  $\geq 2$ , то повышение является невозможным. Если дозу не повышали во втором цикле, то в последующих циклах дозу повышать не следует.

Лечение отека CNS: у любого пациента, у которого развивается симптоматический внутричерепной отек во время исследования, сохраняют дозирование REGN2810 и лучевую терапию до спадания отека.

У пациентов, у которых развивается внутричерепной отек, бевацизумаб вводят IV, при необходимости (PRN), в сниженной дозе относительно стандарта (предложенная доза 5 мг/кг раз в 2 недели в течение вплоть до 3 доз, не больше чем 10 мг/кг на дозу раз в 2 недели), если не противопоказано (например, если пациент не имел хирургическое вмешательство в пределах последних 28 суток).

Если бевацизумаб не снимает внутричерепной отек, можно вводить системные кортикостероиды, в дополнение к бевацизумабу или в качестве замены ему, которые в наименьшей дозе должны подходить для контроля симптомов. У пациентов, которые не переносят бевацизумаб, используют кортикостероиды в дозе, которая должна подходить для контроля симптомов.

Переменные исследования.

Основным показателем эффективности является общая выживаемость (OS), которую определяют как временной интервал от даты рандомизации до даты смерти по любой причине.

Ключевой второй конечной точкой является выживаемость без прогрессирования (PFS), которую определяют как временной интервал от даты рандомизации до даты первого наблюдения прогрессирования заболевания или даты смерти (по любой причине). Прогрессирование заболевания определяют с помощью критериев iRANO.

Другие вторые конечные точки эффекта представляют собой следующее.

Частота объективного ответа (ORR): определяют как долю пациентов с подтвержденным полным ответом (CR) или подтвержденным частичным ответом (PR), который определяют с помощью критериев Immunotherapy Response Assessment in Neuro-Oncology (iRANO) относительно общего числа пациентов в анализируемой популяции.

Длительность ответа: определяют для пациентов с наилучшим общим ответом для CR или PR. Длительность ответа измеряют по критериям измерения времени сначала, которые отвечают CR/PR (что регистрируют первым), до первой даты рецидивирующего или прогрессирующего заболевания (радиографически) или смерти по любой причине.

Длительность контроля заболевания: определяют для пациентов с наилучшим общим ответом для SD, CR или PR.

Длительность контроля заболевания измеряют от начала лечения до первой даты рецидивирующего или прогрессирующего заболевания (радиографически) или смерти по любой причине.

Переменные качества жизни и контроля симптомов: переменные качества жизни и контроля симптомов представляют собой:

пять функциональных шкал, три шкалы симптомов, одну глобальную меру состояния здоровья и шесть однопараметрических шкал, по которым оценивают симптомы с использованием опросников EORTC QLQ-C30 во время исследования;

четыре шкалы и 7 отдельных параметров с использованием опросников EORTC QLQ-BN20 во время исследования;

клиническую оценку с использованием NANO;

общую оценку MMSE во время исследования;

использование кортикостероида на базовом уровне, кумулятивное использование кортикостероидов во время исследования, и длительность без стероидов или использование низких доз стероидов во время периода без прогрессирования в исследовании;

использование бевацизумаба PRN на базовом уровне, кумулятивный бевацизумаб PRN во время исследования и длительность без бевацизумаба во время периода без прогрессирования в исследовании.

Исследовательские переменные биологических маркеров: другая конечная точка включает фармакодинамические, прогностические и предсказательные биологические маркеры, связанные с клиническим ответом, механизмом действия и возможными АЕ, связанными с REGN2810, после лечения. Переменные биологических маркеров включают:

уровни экспрессии рецепторов иммунных контрольных точек PD-L1, GITR и LAG3, а также других потенциальных биологических маркеров (например, EGFRvIII, Ki67 и т.п.) в образцах опухолей;

число и распределение ТИЛ в образцах опухолей;

мутационный статус IDH1, нестабильность микросателлитов (MSI) и мутационная нагрузка в образцах опухолей;

циркулирующие биологические маркеры, в том числе цитокины и ангиогенные факторы;

субпопуляции клеток и уровни экспрессии биологических маркеров, представляющих интерес, в РВМС;

статус метилирования промотора MGMT (также используют для стратификации).

Другие переменные включают концентрацию REGN2810 в сыворотке (фармакокинетические переменные) и образование антител против REGN2810.

Процедуры и оценки.

После периода скрининга вплоть до 28 суток пациенты получают вплоть до двенадцати 56-суточных циклов лечения в течение вплоть до всего 96 недель лечения, после чего следовал период наблюдения 24 недели. Осуществляют анализ эффекта, безопасности, PK, ADA и исследовательских биологических маркеров.

Процедуры эффекта.

MRI: MRI для оценки опухоли осуществляют через 72 ч после хирургического вмешательства в скрининговый визит (в пределах 28 суток до инфузии), в сутки 56±3 каждого цикла (приблизительно каждые 8 недель), и когда предполагают PD. У пациентов, у которых заболевание не прогрессировало, выполняют дополнительные оценки опухоли в визиты последующего наблюдения 3, 5 и 7. Примечание: если подтверждали PD, не требуются дополнительные сканирования во время визитов последующего наблюдения. Если MRI до и после хирургического вмешательства осуществляли перед включением в исследование, эти сканирования также следует вносить в исследование, чтобы содействовать при определении объема опухоли и прогрессирования опухоли.

Оценку опухолевого ответа осуществляют в соответствии с iRANO; и клиническую неврологическую оценку выполняют с помощью NANO. Оценки в соответствии с RANO также осуществляют в качестве вспомогательного исследования; однако первичное определение прогрессирования заболевания для индивидуального пациента выполняют в соответствии с iRANO.

Опросник European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Questionnaire (EORTC QLQ-C30) и опросник EORTC Brain Cancer Module (EORTC QLQ-BN20): EORTC QLQ-C30 представляет собой опросник по 30 параметрам, в котором оценивают качество жизни, связанное со здоровьем (HRQoL), у пациентов со злокачественными опухолями с использованием 15 шкал (одно- или многопараметрических), для каждой возможны оценки в диапазоне от 0 до 100. Из 30 параметров 24 собраны в 9 многопараметрических шкал, представляющих различные аспекты HRQoL: 5 функциональных шкал (физическая, ролевая, эмоциональная, когнитивная и социальная), 3 шкалы симптомов (устомление,

боль и тошнота) и 1 глобальная мера состояния здоровья. По остальным 6 однопараметрическим шкалам оценивают симптомы: диспноэ, потеря аппетита, нарушение сна, констипация и диарея и понесенное финансовое бремя лечения заболевания. Высокие оценки указывают на более хорошее HRQoL для глобальной меры состояния здоровья и функциональных шкал и более плохое HRQoL для шкал симптомов.

EORTC QLQ-BN20 представляет собой оценку QoL по 20 параметрам, специфичным для новообразований головного мозга, и предназначен для дополнения EORTC QLQ-C30 при оценке качества жизни, связанного со здоровьем. В опроснике EORTC QLQ-BN20 оценивают симптомы заболевания, побочные эффекты лечения и некоторые специфичные психосоциальные вопросы, важные для пациентов со злокачественной опухолью головного мозга, с использованием 4 шкал (оценка неопределенности будущего, нарушения зрения, нарушения двигательной функции и дефицит общения) и 7 отдельных параметров (оценка других симптомов заболевания [например, головные боли и пароксизмы] и токсических эффектов лечения [например, потери волос]). Возможные оценки находятся в диапазоне от 0 до 100; высокие оценки указывают на более плохое HRQoL.

Миниоценка психического статуса: Mini-Mental State Examination (MMSE©) представляет собой лаконичную количественную меру когнитивного статуса у взрослых. Ее можно использовать для скрининга нарушения когнитивных функций, чтобы оценивать тяжесть нарушения когнитивных функций в заданный момент времени и наблюдать за ходом когнитивных изменений у индивидуума с течением времени. В этом исследовании, оценка MMSE является частью неврологического осмотра, выполняемого в контексте оценки заболевания.

MMSE осуществляют в сутки 1/базовый уровень, в конце каждого цикла лечения и каждые 8 недель во время периода наблюдения. Оценки MMSE совпадают с планом оценки заболевания, но их следует выполнять перед объявлением результатов радиологической оценки пациенту. MMSE можно выполнять в начале следующего запланированного введения лечения. Во время периода наблюдения выживаемости следует продолжать выполнять MMSE при каждом втором визите выживаемости (каждые 8 недель), если пациент еще не прогрессировал.

Общая оценка MMSE имеет возможный диапазон от 0 (наихудшая) до 30 (наилучшая).

Процедуры безопасности.

В сутки 1 цикла 1 и во все последующие сутки лечения показатели жизнедеятельности, в том числе температуру, кровяное давление, пульс и дыхание в покое, наряду с массой, следует собирать до инфузии и приблизительно через 15 мин после завершения инфузии. Полный физикальный осмотр и ECG в 12 отведениях осуществляют в начале каждого цикла.

Процедуры для исследовательских биологических маркеров опухолей.

Биологические маркеры, представляющие интерес, которые анализируют посредством иммуногистохимии (ИHC), включают, но не ограничиваясь этим, EGFRvIII и биологические маркеры клеточной пролиферации (например, Ki67). Уровни экспрессии (мРНК и/или белок) PD-L1, GITR и LAG-3, а также маркеры линии дифференцировки инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (CD4, CD8, CD25, FoxP3) анализируют в образцах биопсии опухоли, чтобы исследовать потенциальный эффект REGN2810.

Образцы опухолевых тканей можно использовать для экстрагирования опухолевой ДНК и РНК и последующего анализа предполагаемых генетических биологических маркеров, релевантных для исследуемого лечения и глиобластомы. Образец крови берут для выделения ДНК зародышевой линии в сутки 1/базовый уровень (перед дозой) или в любой визит исследования, если возможен сбор в сутки 1/базовый уровень. Анализ опухолевой ДНК включает (но не ограничиваясь этим) статус метилирования промотора MGMT, мутационный статус IDH1, нестабильность микросателлитов (MSI) и мутационная нагрузка опухоли (обе могут предсказывать ответ на REGN2810 и другие иммунотерапевтические средства). Осуществляют анализ генетических вариантов в опухолевой (соматической) ДНК и ДНК зародышевой линии, которые могут влиять на прогрессирование заболевания, ответ на лекарственное средство и возможную токсичность. ДНК зародышевой линии также используют для сравнения с опухолевой ДНК, чтобы исследовать потенциальные новые генетические варианты, лежащие в основе процессов озлокачествления.

Результаты.

REGN2810 в комбинации с hfRT безопасно и хорошо переносится пациентами с nGBM. Введение REGN2810 в комбинации с hfRT ингибирует опухолевый рост и/или способствует регрессу опухоли у пациентов с nGBM по сравнению с терапией по стандарту лечения. Пациенты с nGBM, которых лечили с использованием REGN2810 и hfRT, демонстрируют более длительную OS по сравнению с терапией по стандарту лечения.

Пример 11. Клиническое исследование REGN2810 у пациентов с распространенной плоскоклеточной карциномой кожи.

В этом примере описана фаза 2 исследования, которую проводили для того, чтобы подтвердить положительные результаты, наблюдаемые у пациентов с распространенной CSCC в фазе 1 исследования (см. примеры 7, 8 и 9 в настоящем описании).

Цели исследования.

Основная цель этого исследования состоит в том, чтобы оценивать клиническую пользу монотера-

пии REGN2810 для пациентов с метастатической (узловой или отдаленной) плоскоклеточной карциномой кожи (CSCC) (группа 1) или с не резектабельной местно распространенной CSCC (группа 2), как измеряют с помощью общей частоты ответа (ORR).

Второстепенные цели исследования представляют собой: (i) оценку ORR; (ii) оценку длительности ответа, выживаемости без прогрессирования (PFS) и общей выживаемости (OS); (iii) оценку частоты полного ответа (CR); (iv) оценку безопасности и переносимости REGN2810; (v) оценку фармакокинетики (PK) REGN2810; (vi) оценку иммуногенности REGN2810; и (vii) оценку влияния REGN2810 на качество жизни с использованием EORTC QLQ-C30.

План исследования.

Это представляет собой фазу 2 не рандомизированного многоцентрового исследования REGN2810 в 2 группах в дозе 3 мг/кг, вводимого внутривенно (IV) каждые 2 недели пациентам с распространенной CSCC. Исследование имеет 2 группы. Группа 1 для пациентов с метастатической CSCC. Группа 2 для пациентов с не резектабельной местно распространенной CSCC. Все пациенты проходят процедуры скрининга для того, чтобы определять пригодность в пределах 28 суток перед начальным введением REGN2810.

После периода скрининга вплоть до 28 суток пациенты получают вплоть до двенадцати 56-суточных (8-недельных) циклов лечения в течение вплоть до 96 недель лечения. Каждый пациент получает 3 мг/кг REGN2810 IV в сутки 1,  $15\pm 3$ ,  $29\pm 3$  и  $43\pm 3$  во время каждого цикла лечения. Оценки опухоли выполняют в конце каждого цикла лечения. Расширенные оценки безопасности проводят в сутки 1 каждого цикла, а стандартные оценки безопасности следует проводить каждый визит дозирования REGN2810.

Пациент получает лечение до завершения 96-недельного периода лечения или до прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности, отзыва согласия или подтвержденного CR. Пациенты с подтвержденным CR после минимум 48 недель лечения могут выбирать прервать лечение и продолжать все релевантные оценки исследования (например, оценки эффекта).

Длительность исследования.

Скрининг (вплоть до 4 недель), вплоть до 96 недель лечения и вплоть до 6 месяцев последующего наблюдения.

Исследуемая популяция.

Пациенты с метастатической CSCC или с не резектабельной местно распространенной CSCC.

Исследуемое лечение.

REGN2810 3 мг/кг вводят IV в течение 30 мин каждые 14 суток в течение 96 недель.

Переменные исследования.

Основным показателем эффективности для этого исследования является ORR во время 12 циклов лечения. Общую частоту ответа оценивают отдельно для пациентов с метастатической CSCC или с не резектабельной местно распространенной CSCC: для пациентов в группе 1 используют Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) версии 1.1 для того, чтобы определять ORR. Для пациентов в группе 2 составные критерии ответа используют для того, чтобы определять ORR. У пациентов, достигающих CR, биопсии опухоли используют при финальном определении полного ответа в сравнении с частичным (PR).

Вторые меры исхода эффекта представляют собой: длительность ответа; длительность контроля заболевания; PFS; OS; частоту CR; изменение оценок исходов, сообщаемых пациентом в EORTC QLQ-C30; нежелательные явления (AE); концентрации REGN2810 в сыворотке; и антитела против REGN2810.

Процедуры и оценки.

Визуализацию опухоли (компьютерная томография [CT] или магнитно-резонансная визуализация [MRI]) и цифровую медицинскую фотографию (для повреждений, которые видны снаружи) осуществляют для того, чтобы измерять опухолевую нагрузку и определять характеристики профиля эффекта исследуемого лечения с использованием критериев ответа.

Физикальный осмотр, лабораторные тесты, показатели жизнедеятельности, электрокардиограмму (ECG), тест на беременность для женщин со способностью к деторождению и регистрацию AE и сопутствующей лекарственной терапии осуществляют, чтобы гарантировать безопасность пациентов и определять характеристики профилей безопасности для исследуемого лечения.

Другие оценки включают: образцы периферической крови для PK; образцы периферической крови для того, чтобы оценивать антитела против REGN2810; биопсии опухоли; и оценки качества жизни.

Результаты.

Регистрация в исследование закончена и результаты на сегодняшний день находятся на уровне результатов фазы I (описано в настоящем описании в примерах 7, 8 и 9), где пациенты демонстрируют ингибирование опухолевого роста при введении REGN2810. Пациенты с метастатической CSCC, которых лечили с использованием предшествующей терапии и которые не подвергались хирургическому вмешательству, демонстрируют полный ответ, частичный ответ или стабильное заболевание при лечении с использованием антитела против PD-1 REGN2810.

Пример 12. Клиническое исследование REGN2810 у пациентов с распространенной базальнокле-



точной карциномой.

Проводили фазу 2 исследования для того, чтобы подтверждать положительные результаты, которые наблюдали у пациентов с распространенной ВСС в фазе 1 исследования (см. примеры 7 и 8 в настоящем описании).

Цели исследования.

Основная цель исследования состоит в том, чтобы оценивать общую частоту ответа (ORR) для метастатической базальноклеточной карциномы (ВСС) (группа I) или не резектабельной местно распространенной ВСС (группа II) при лечении с использованием монотерапии REGN2810 у пациентов, которые прогрессировали на ингибиторе пути Hedgehog (НИ) или не толерантны к предшествующей НИ терапии.

Второстепенные цели как для группы I, так и для группы II представляют собой: (i) оценку ORR в соответствии с исследовательским обзором; (ii) оценку длительности ответа, выживаемости без прогрессирования (PFS) и общей выживаемости (OS); (iii) оценку частоты полного ответа (CR); (iv) оценку безопасности и переносимости REGN2810; (v) оценку фармакокинетики (ПК) REGN2810; (vi) оценку иммуногенности REGN2810; и (vii) оценку влияния REGN2810 на качество жизни с использованием European Organisation for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Questionnaire Core 30 (EORTC QLQ-C30) и Skindex-16.

План исследования.

Это представляет собой фазу 2 не рандомизированного многоцентрового исследования в 2 группах для REGN2810 в дозе 350 мг, которую вводят внутривенно (IV) каждые 3 недели (раз в 3 недели) пациентам с распространенной ВСС, которые переносили прогрессирование заболевания на НИ терапии или не толерантны к предшествующей НИ терапии. Исследование имеет 2 группы. Группа 1 для пациентов с метастатической ВСС. Группа 2 для пациентов с не резектабельной местно распространенной ВСС. Все пациенты проходят процедуры скрининга для того, чтобы определять пригодность, в пределах 28 суток перед начальным введением REGN2810. Рандомизация или контроль с плацебо отсутствуют.

После периода скрининга вплоть до 28 суток, пациенты получают вплоть до 93 недель лечения. Каждый пациент получает дозу REGN2810 350 мг IV раз в 3 недели. Время инфузии для REGN2810 составляет приблизительно 30 мин ( $\pm 10$  минут). Оценки опухоли выполняют в конце каждого цикла лечения, 5 циклов лечения в 9 недель, после чего следовало 4 цикла лечения в 12 недель). Расширенные оценки безопасности проводят в сутки 1 каждого цикла, а стандартные оценки безопасности проводят в каждый визит дозирования REGN2810.

Пациент получает лечение до завершения 93-недельного периода лечения или до прогрессирования заболевания (PD), неприемлемой токсичности, отзыва согласия или подтверждения CR. Пациенты с подтвержденным CR после минимум 48 недель лечения могут выбирать прервать лечение и продолжать все релевантные оценки исследования (например, оценки эффекта). Пациенты, которые прекращают исследуемое лечение из-за PD, возвращаются в клинику через 30 суток (диапазон: от 28 суток до 42 суток) после последнего исследуемого лечения, чтобы завершать оценки в конце исследования (EOS). После визита EOS пациентов наблюдают на предмет статуса выживаемости до смерти, невозможности последующего наблюдения или окончания исследования.

Длительность исследования.

После периода скрининга вплоть до 28 суток пациенты получают вплоть до 93 недель лечения. После визита в конце исследования имеет место период наблюдения, состоящий из периодов в 28 суток. Пациентов наблюдают на предмет статуса выживаемости до смерти, невозможности последующего наблюдения или окончания исследования.

Исследуемая популяция.

Пациенты с метастатической (группа 1) или не резектабельной местно распространенной (группа 2) ВСС, которые переносили прогрессирование заболевания на НИ терапии или не толерантны к предшествующей НИ терапии.

Исследуемое лечение.

Исследуемое лечение содержало 350 мг REGN2810, вводимого IV в течение 30 мин ( $\pm 10$  минут) раз в каждые 3 недели (раз в 3 недели) в течение вплоть до 93 недель.

Конечные точки.

Основным показателем эффективности для этого исследования является ORR. ORR оценивают отдельно для пациентов с метастатической ВСС (группа 1) или не резектабельной местно распространенной ВСС (группа 2):

Для пациентов в группе 1 (метастатическая ВСС), Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) версии 1.1 используют для того, чтобы определять ORR. Клинические критерии ответа можно использовать для пациентов с видимым снаружи целевыми повреждениями, если все метастатические повреждения не поддаются измерению с помощью RECIST (как может происходить у пациентов с метастазами только в кости).

Для пациентов в группе 2 (не резектабельная локально распространенная ВСС), клинические кри-

терии используют для того, чтобы определять ORR. Составные критерии ответа используют для пациентов с повреждениями, которые поддаются измерению с помощью и клинических критериев ответа и RECIST 1.1.

Вторыми конечными точками являются: (i) длительность ответа; (ii) PFS; (iii) OS; (iv) частота CR; (v) изменение оценок исходов, сообщаемых пациентом в EORTC QLQ-C30 и Skindex-16; (vi) нежелательные явления (AE); (vii) концентрации REGN2810 в сыворотке; и (viii) антитела против REGN2810.

Процедуры и оценки.

Визуализацию опухоли (компьютерная томография [СТ] или магнитно-резонансная визуализация [MRI]) и цифровую медицинскую фотографию (для повреждений, видимых снаружи) выполняют для того, чтобы измерять опухолевую нагрузку и определять характеристики профиля эффекта исследуемого лечения с использованием критериев ответа. Физикальный осмотр, лабораторные тесты, показатели жизнедеятельности, электрокардиограмму (ECG), тест на беременность для женщин со способностью к деторождению и регистрацию AE и сопутствующей лекарственной терапии осуществляют, чтобы гарантировать безопасность пациентов и определять характеристики профилей безопасности для исследуемого лечения. Другие оценки включают образцы крови для ПК, образцы крови для того, чтобы оценивать антитела против REGN2810, биопсии опухоли, биологические маркеры и оценки качества жизни.

Результаты.

Ожидают, что в соответствии с результатами фазы 1 (см. примеры 7 и 8 в настоящем описании), введение REGN2810 приведет к регрессу опухоли у пациентов с распространенной базальноклеточной карциномой, которые демонстрировали прогрессирование заболевания при лечении ингибитором пути Hedgehog (НИ) или не толерантны к предшествующей НИ терапии. Пациенты демонстрируют полный ответ, частичный ответ или стабильное заболевание при лечении с использованием REGN2810.

Объем настоящего изобретения не подлежит ограничению конкретными вариантами осуществления, описанными в настоящем описании. В действительности, различные модификации изобретения в дополнение к тем, что рассмотрены в настоящем описании, будут видны специалистам в данной области из приведенного выше описания и сопроводительных фигур. Предусмотрено, что такие модификации попадают в объем приложенной формулы изобретения.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

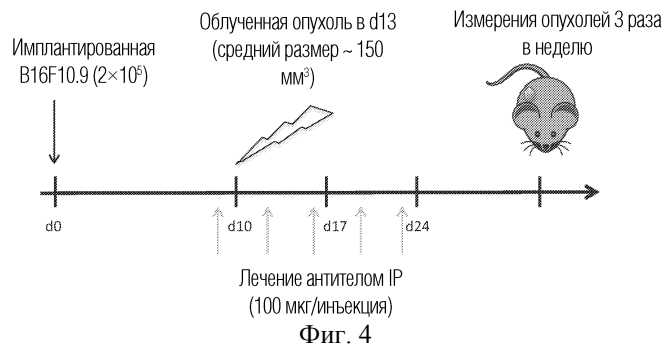
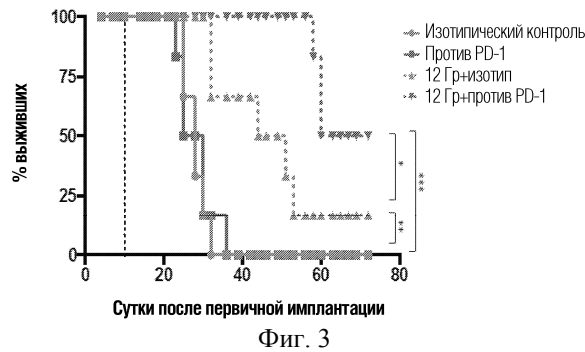
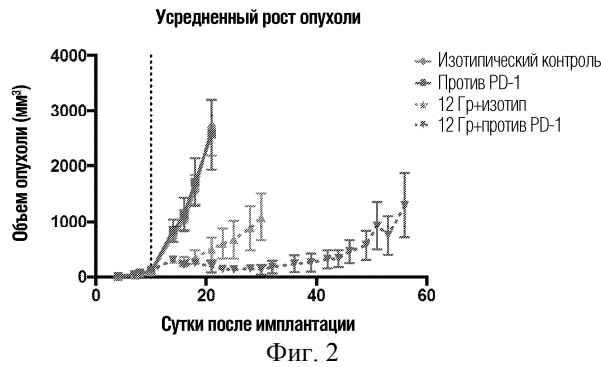
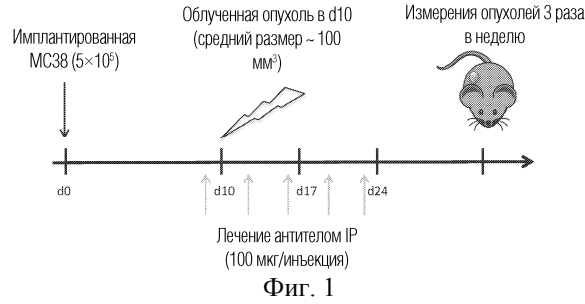
1. Способ лечения или ингибирования роста опухоли, включающий:
  - (a) отбор пациента с плоскоклеточной карциномой кожи (CSCC); и
  - (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с PD-1;
 

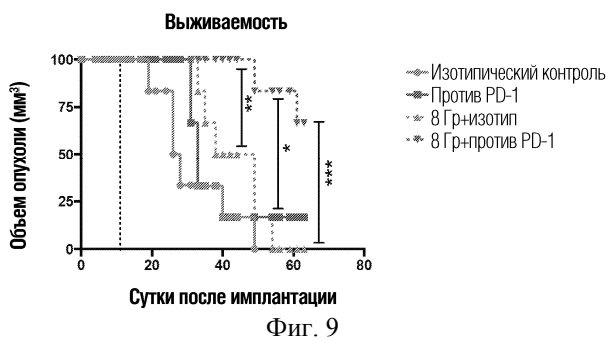
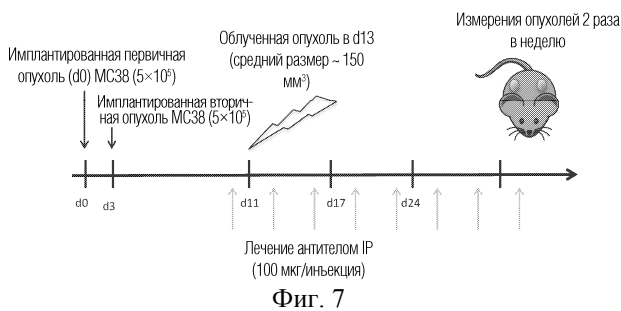
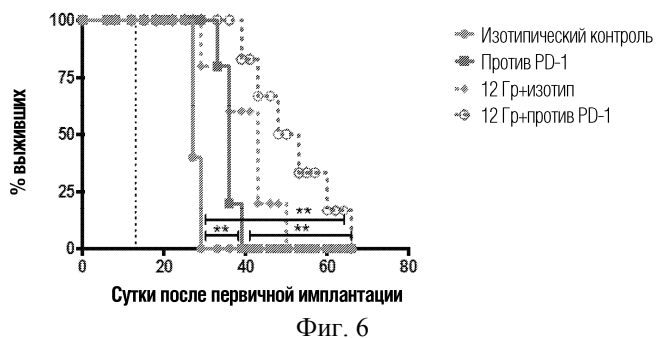
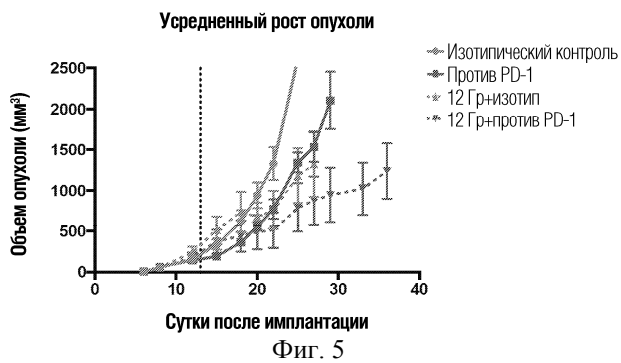
где антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) варибельной области тяжелой цепи (HCVR) и три определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) варибельной области легкой цепи (LCVR);

где HCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; HCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; HCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; LCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7 и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.
2. Способ по п.1, где CSCC представляет собой метастатическую, нерезектабельную или местнораспространенную карциному.
3. Способ по п.1 или 2, где CSCC является метастатической карциномой и где пациент ранее получал по меньшей мере один тип лечения, выбранный из группы, состоящей из хирургии, лучевой терапии, химиотерапии, или ему вводили другое анти-PD-1 антитело.
4. Способ по любому из пп.1-3, где указанный пациент не переносит лечение или у которого наблюдается прогрессирование CSCC после проведения противораковой терапии, выбранной из хирургии, радиации, химиотерапии и приема другого анти-PD-1 антитела.
5. Способ по любому из пп.1-4, где CSCC представляет собой метастатическую или местнораспространенную карциному, и пациент не поддается хирургическому лечению или куративной лучевой терапии.
6. Способ по любому из пп.1-5, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в виде одной или нескольких доз, где каждую дозу вводят через 0,5-4 недель после непосредственно предшествующей дозы.
7. Способ по п.6, где каждую дозу вводят через 2 недели после непосредственно предшествующей дозы.
8. Способ по п.6, где каждую дозу вводят через 3 недели после непосредственно предшествующей дозы.
9. Способ по любому из пп.6-8, где каждая доза содержит 1, 3 или 10 мг/кг массы тела пациента.

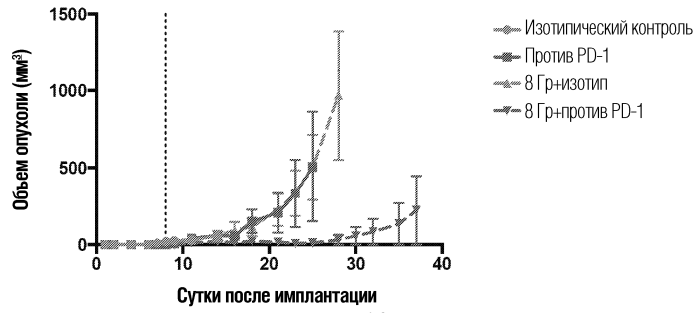
10. Способ по п.9, где каждая доза содержит 3 мг/кг массы тела пациента.
11. Способ по любому из пп.6-8, где каждая доза содержит 50-600 мг антитела против PD-1.
12. Способ по п.11, где каждая доза содержит 200, 250 или 350 мг антитела против PD-1.
13. Способ по любому из пп.1-12, где пациент резистентен к ранее проведенной терапии или недостаточно отвечает на нее или у него отмечается рецидив.
14. Способ по любому из пп.1-13, где введение приводит по меньшей мере к одному эффекту, выбранному из группы, состоящей из ингибирования опухолевого роста, регрессии опухоли, уменьшения размера опухоли, уменьшения числа опухолевых клеток, задержки опухолевого роста, абскопального эффекта, ингибирования метастазирования опухоли, уменьшения метастатических поражений за определенный период времени, пониженному использованию химиотерапевтических или цитотоксических средств, снижения опухолевой нагрузки, увеличения выживаемости без прогрессирования, увеличения общей выживаемости, полного ответа, частичного ответа и стабильного заболевания.
15. Способ по любому из пп.1-14, где антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в качестве монотерапии.
16. Способ по любому из пп.1-14, дополнительно включающий введение индивиду дополнительно терапевтического средства или лечения, где дополнительное терапевтическое средство или лечение выбрано из группы, состоящей из хирургического вмешательства, облучения, химиотерапевтического средства, вакцины против злокачественной опухоли, ингибитора лиганда белка 1 программируемой клеточной гибели (PD-L1), ингибитора гена активации лимфоцитов 3 (LAG3), ингибитора белка 4, ассоциированного с цитотоксическими Т-лимфоцитами (CTLA-4), антитела рецептора индуцированного глюкокортикоидами фактора некроза опухоли (GITR), ингибитора, содержащего Т-клеточный иммуноглобулин и муцин-3 (TIM3), ингибитора В- и Т-лимфоцитарного аттенуатора (BTLA), ингибитора Т-клеточного иммунорецептора с доменами Ig и ITIM (TIGIT), ингибитора CD47, ингибитора индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO), биспецифического антитела против CD3/против CD20, антагониста фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), ингибитора ангиопоэтина-2 (Ang2), ингибитора трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF $\beta$ ), ингибитора CD38, ингибитора рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), циклофосфамида, антитела к опухолеспецифическому антигену, вакцины из бациллы Кальметта-Герена, цитотоксина, ингибитора рецептора интерлейкина-6 (IL-6R), ингибитора рецептора интерлейкина-4 (IL-4R), ингибитора IL-10, IL-2, IL-7, IL-21, IL-15, конъюгата антитело-лекарственное средство, противовоспалительного лекарственного средства и антиоксиданта.
17. Способ по любому из пп.1-16, где антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят внутривенно, подкожно или внутривентриально.
18. Способ по любому из пп.1-17, где антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HCVR, которая на 90% идентична последовательности SEQ ID NO: 1.
19. Способ по любому из пп.1-18, где антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит LCVR, которая на 90% идентична последовательности SEQ ID NO: 2.
20. Способ по любому из пп.1-19, где антитело против PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HCVR, которая на 90% идентична последовательности SEQ ID NO: 1, и LCVR, которая на 90% идентична последовательности SEQ ID NO: 2.
21. Способ по любому из пп.1-17, где HCVR содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 и LCVR содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.
22. Способ по любому из пп.1-17, где антитело против PD-1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.
23. Способ лечения или ингибирования роста опухоли, включающий:
  - (a) отбор пациента с метастатической плоскоклеточной карциномой кожи (CSCC) или местнораспространенным CSCC, где пациент не является кандидатом на хирургическое вмешательство или лечебное облучение; и
  - (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела, которое специфически связывается с PD-1; где антитело содержит три области, определяющие комплементарность тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) варибельной области тяжелой цепи (HCVR), и три области, определяющие комплементарность легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) варибельной области легкой цепи (LCVR);  
где HCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; HCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; HCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; LCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8; и  
где антитело вводят внутривенно каждые три недели в дозе 350 мг.
24. Способ по п.23, где антитело против PD-1 содержит HCVR, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и LCVR, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

25. Способ по п.23 или 24, где антитело против PD-1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

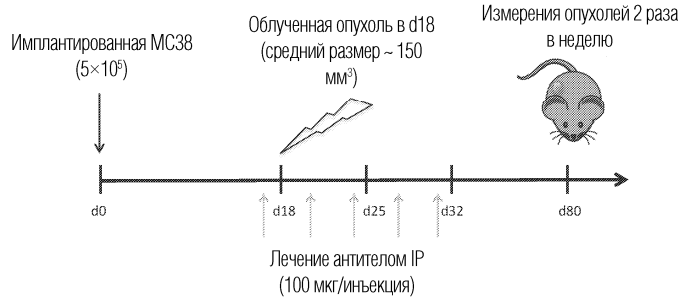




Усредненный рост вторичной опухоли

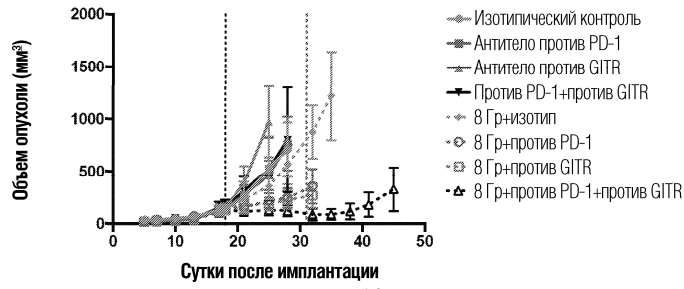


Фиг. 10



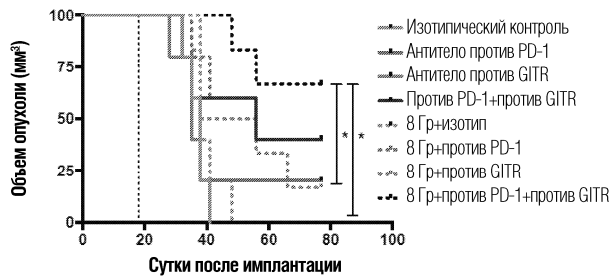
Фиг. 11

Усредненный рост опухоли

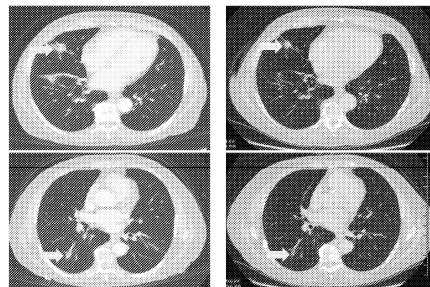


Фиг. 12

Выживаемость



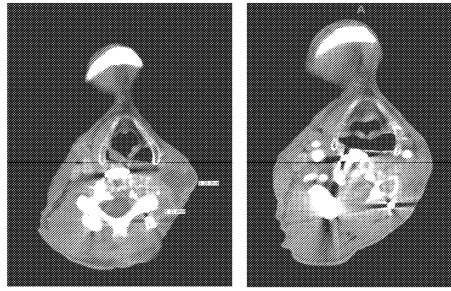
Фиг. 13



Базовый уровень

Неделя 24

Фиг. 14А



Базовый уровень

Неделя 16

Фиг. 14В

