

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202190376 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.11.16

(22) Дата подачи заявки
2019.07.25

(51) Int. Cl. A61K 38/17 (2006.01)
A61K 31/505 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 33/243 (2019.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

(54) КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ LAG-3 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА

(31) 62/703,690; 62/725,336

(32) 2018.07.26; 2018.08.31

(33) US

(86) PCT/US2019/043370

(87) WO 2020/023707 2020.01.30

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

(72) Изобретатель:
Сривастава Шивани (US)

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

(57) Изобретение относится к способу лечения опухоли у пациента-человека с раком желудка или раком гастроэзофагеального перехода.

A1

202190376

202190376

A1

КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ LAG-3 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА СВЯЗАННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] По этой заявке испрашивается приоритет по Предварительной Заявке США No. 62/703,690, поданной 26 июля 2018 года, и 62/725,336, поданной 31 августа 2018 года, которые включены в настоящий документ посредством ссылки во всей их полноте.

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к способам лечения злокачественной опухоли у пациента-человека комбинацией ингибитора LAG-3, ингибитора пути PD-1 и химиотерапевтических агентов.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Ген-3 активации лимфоцитов (LAG-3; CD223) представляет собой трансмембранный белок типа I, который экспрессируется на клеточной поверхности активированных Т-клеток CD4⁺ и CD8⁺ и подмножеств клеток NK и дендритных клеток (Triebel F, *et al.*, *J. Exp. Med.* 1990; 171:1393-1405; Workman C J, *et al.*, *J. Immunol.* 2009; 182(4):1885-91). LAG-3 тесно связан с CD4, который является корецептором для активации Т-хелперных клеток. Обе молекулы имеют 4 внеклеточных Ig-подобных домена и требуют связывания со своим лигандом, главным комплексом гистосовместимости (МНС) класса II, для их функциональной активности. В отличие от CD4, LAG-3 экспрессируется только на клеточной поверхности активированных Т-клеток, и его отщепление от клеточной поверхности прекращает сигнализацию LAG-3. LAG-3 также может быть найден как растворимый белок, но он не связывается с МНС класса II, и функция растворимого LAG-3 неизвестна.

[0004] PD-1 представляет собой сигнальный рецептор клеточной поверхности, который играет критическую роль в регуляции активации и толерантности Т-клеток (Keir M E, *et al.*, *Annu Rev Immunol* 2008; 26:677-704). Это трансмембранный белок типа I, который вместе с BTLA, CTLA-4, ICOS и CD28 входит в семейство CD28 костимулирующих рецепторов Т-клеток. PD-1 в основном экспрессируется на активированных Т-клетках, В-клетках и миелоидных клетках (Dong H, *et al.*, *Nat Med.* 1999; 5:1365-1369). Он также экспрессируется на естественных киллерных (NK) клетках (Terme M, *et al.*, *Cancer Res* 2011; 71:5393-5399). Связывание PD-1 с помощью его лигандов, PD-L1 и PD-L2, приводит к фосфорилированию остатка тирозина в проксимальном внутриклеточном тирозиновом ингибирующем домене иммунного рецептора с последующим рекрутированием фосфатазы SHP-2, что в конечном итоге приводит к даун-регуляции активации Т-клеток. Одна из важных ролей PD-1 заключается в ограничении активности Т-клеток в периферических тканях во время воспалительного ответа на инфекцию, тем самым ограничивая развитие аутоиммунитета (Pardoll D M., *Nat Rev Cancer* 2012; 12:252-

264). Доказательством этой негативной регуляторной роли является тот факт, что у мышей с дефицитом PD-1 развиваются подобные волчанке аутоиммунные заболевания, включая артрит и нефрит, наряду с кардиомиопатией (Nishimura H, *et al.*, *Immunity*, 1999; 11:141-151; и Nishimura H, *et al.*, *Science*, 2001; 291:319-322). В отношении опухоли следствием является развитие иммунной резистентности в микроокружении опухоли. PD-1 высоко экспрессируется на инфильтрирующих опухоль лимфоцитах, а его лиганды ап-регулируются на клеточной поверхности многих различных опухолей (Dong H, *et al.*, *Nat Med* 2002; 8:793-800). Многочисленные модели рака на мышах показали, что связывание лиганда с PD-1 приводит к уклонению от распознавания иммунной системой. Кроме того, блокада этого взаимодействия приводит к противоопухолевой активности (Topalian S L, *et al.* *NEJM* 2012; 366(26):2443-2454; Hamid O, *et al.*, *NEJM* 2013; 369:134-144). Более того, было показано, что ингибирование взаимодействия PD-1/PD-L1 опосредует мощную противоопухолевую активность в доклинических моделях (Пат. США No. 8,008,449 и 7,943,743).

[0005] Целью настоящего изобретения является создание усовершенствованных способов лечения положительных по LAG-3 опухолей.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0006] Один из аспектов изобретения, раскрытого в настоящем документе, относится к способу ингибирования роста злокачественной опухоли у пациента-человека, где способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из: (а) антагониста LAG-3; (b) ингибитора пути PD-1; и (с) одного или нескольких химиотерапевтических агентов; при этом иммунные клетки пациента, ассоциированные с опухолью, экспрессируют LAG-3. Другой аспект изобретения относится к способу лечения рака у пациента-человека, где способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из: (а) антагониста LAG-3; (b) ингибитора пути PD-1; и (с) одного или нескольких химиотерапевтических агентов; при этом иммунные клетки пациента, ассоциированные с опухолью, экспрессируют LAG-3. Один аспект изобретения относится к способу ингибирования роста злокачественной опухоли у пациента-человека, где способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из: (а) антагониста LAG-3; (b) ингибитора пути PD-1; и (с) одного или нескольких химиотерапевтических агентов. Другой аспект изобретения относится к способу лечения рака у пациента-человека, где способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из: (а) антагониста LAG-3; (b) ингибитора пути PD-1; и (с) одного или нескольких химиотерапевтических агентов.

[0007] В одном варианте выполнения изобретения злокачественная опухоль выбирается из группы, состоящей из рака печени, рак кости, рака поджелудочной железы, рака кожи, рака полости рта, рака головы или шеи, рака молочной железы, рака легкого, включая мелкоклеточный и немелкоклеточный рак легкого, кожной или внутриглазной злокачественной меланомы, рака почки, рака матки, рака яичников, колоректального

рака, рака толстой кишки, ректального рака, рака анальной области, рака желудка, рака яичка, рака матки, карциномы фаллопиевых труб, карциномы эндометрия, карциномы шейки матки, карциномы влагалища, карциномы вульвы, неходжкинской лимфомы, рака пищевода, рака тонкой кишки, рака эндокринной системы, рака щитовидной железы, рака паращитовидной железы, рака надпочечника, саркомы мягких тканей, рака мочеиспускательного канала, рака пениса, раковых заболеваний детского возраста, лимфоцитарной лимфомы, рака мочевого пузыря, рака почки или мочеточника, карциномы почечных лоханок, неоплазмы центральной нервной системы (ЦНС), первичной лимфомы ЦНС, ангиогенеза опухоли, опухоли оси позвоночника, глиомы ствола головного мозга, аденомы гипофиза, саркомы Капоши, эпидермоидного рака, плоскоклеточного рака, индуцированных экологией раковых заболеваний, в том числе вызванных асбестом, онкогематологических заболеваний, в том числе, например, множественной миеломы, В-клеточной лимфомы, лимфомы Ходжкина/первичной медиастинальной В-клеточной лимфомы, неходжкинских лимфом, острой миелоидной лимфомы, хронического миелолейкоза, хронического лимфоидного лейкоза, фолликулярной лимфомы, диффузной В-крупноклеточной лимфомы, лимфомы Беркитта, иммунобластной крупноклеточной лимфомы, предшественника В-лимфобластной лимфомы, лимфомы из мантийных клеток, острого лимфобластного лейкоза, фунгоидного микоза, анапластической крупноклеточной лимфомы, Т-клеточной лимфомы, и предшественника Т-лимфобластной лимфомы, и любой их комбинации. В другом варианте выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой рак желудка или рак гастроэзофагеального перехода. В другом варианте выполнения изобретения рак желудка представляет собой аденокарциному, лимфому, стромальную опухоль желудочно-кишечного тракта или карциноидную опухоль. В другом варианте выполнения изобретения злокачественная опухоль выбирается из меланомы, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), опухоли, связанной с вирусом папилломы человека (HPV), рака мочевого пузыря, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, почечно-клеточного рака и аденокарциномы желудка.

[0008] В одном варианте выполнения изобретения антагонист LAG-3 представляет собой антитело к LAG-3. В другом варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3 представляет собой полноразмерное антитело. В другом варианте выполнения изобретения антитело представляет собой моноклональное, человеческое, гуманизированное, химерное или мультиспецифическое антитело. В другом варианте выполнения изобретения мультиспецифическое антитело представляет собой переориентирующееся антитело с двойной аффинностью (DART), DVD-Ig или биспецифическое антитело. В другом варианте выполнения изобретения антитело представляет собой фрагмент F(ab')₂, фрагмент Fab', фрагмент Fab, фрагмент Fv, фрагмент scFv, фрагмент dsFv, фрагмент dAb или одноцепочечный связывающий полипептид. В другом варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3 представляет собой BMS-986016, IMP731 (H5L7BW), MK-4280 (28G-10), REGN3767,

GSK2831781, гуманизированное BAP050, IMP-701 (LAG-525), aLAG3(0414), aLAG3(0416), Sym022, TSR-033, TSR-075, XmaB22841, BI 754111, MGD013, AVA-017, P 13B02-30 или FS-118. В другом варианте выполнения изобретения антагонист LAG-3 представляет собой IMP321. В другом варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3 содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5. В другом варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3 содержит (a) CDR1 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:7; (b) CDR2 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:8; (c) CDR3 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:9; (d) CDR1 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:10; (e) CDR2 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:11; и (f) CDR3 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:12. В другом варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3 содержит вариательные области тяжелой и легкой цепей, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO:3 и 5 соответственно. В другом варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3 содержит тяжелую и легкую цепи, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO:1 и 2 соответственно.

[0009] В одном варианте выполнения изобретения ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело к PD-1 или антитело к PD-L1. В другом варианте выполнения изобретения антитело к PD-1 выбирается из группы, состоящей из: ниволумаба, пембролизумаба, пидилизумаба, PDR001, MEDI0680, TSR-042, REGN2810, JS001, PF-06801591, BGB-A317, BI 754091 и SHR-1210. В другом варианте выполнения изобретения антитело к PD-1 содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:17. В другом варианте выполнения изобретения антитело к PD-1 содержит (a) CDR1 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:19; (b) CDR2 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:20; (c) CDR3 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:21; (d) CDR1 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:22; (e) CDR2 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:23; и (f) CDR3 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:24. В другом варианте выполнения изобретения антитело к PD-1 содержит вариательные области тяжелой и легкой цепей, содержащие последовательности,

указанные в SEQ ID NO:15 и 17 соответственно. В другом варианте выполнения изобретения антитело к PD-1 содержит тяжелую и легкую цепи, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO:13 и 14 соответственно.

[0010] В одном варианте выполнения изобретения один или несколько химиотерапевтических агентов представляют собой соединения платины или фторпиримидины. В другом варианте выполнения изобретения один или несколько химиотерапевтических агентов представляют собой оксалиплатин, цисплатин, фторурацил, капецитабин, тегафур, гимерацил или отерацил. В другом варианте выполнения изобретения один или несколько химиотерапевтических агентов представляют собой оксалиплатин и капецитабин (XELOX). В другом варианте выполнения изобретения один или несколько химиотерапевтических агентов представляют собой оксалиплатин и фторурацил. В другом варианте выполнения изобретения химиотерапевтические агенты дополнительно содержат химиопротекторный агент. В другом варианте выполнения изобретения химиопротекторный агент представляет собой лейковорин. В другом варианте выполнения изобретения один или несколько химиотерапевтических агентов содержат оксалиплатин, лейковорин и фторурацил (FOLFOX). В другом варианте выполнения изобретения один или несколько химиотерапевтических агентов представляют собой оксалиплатин и тегафур/гимерацил/отерацил калия (SOX).

[0011] В одном варианте выполнения изобретения вводят фиксированную дозу комбинации антитела к LAG-3 и к PD-1. В другом варианте выполнения изобретения фиксированная доза определяется на основе химиотерапевтического агента, вводимого субъекту.

[0012] В одном варианте выполнения изобретения способ включает по меньшей мере один цикл введения, причем цикл представляет собой период в шесть недель, и при этом для каждого из по меньшей мере одного цикла вводят две дозы антитела к LAG-3 в дозе 120 или 160 мг и две дозы антитела к PD-1 в дозе 360 или 480 мг. В другом варианте выполнения изобретения вводят 120 мг антитела к LAG-3, 360 мг антитела к PD-1 и XELOX. В другом варианте выполнения изобретения вводят 160 мг антитела к LAG-3, 480 мг антитела к PD-1 и FOLFOX. В другом варианте выполнения изобретения вводят 120 мг антитела к LAG-3, 360 мг антитела к PD-1 и SOX.

[0013] В одном варианте выполнения изобретения антитела к LAG-3 и к PD-1 составлены для внутривенного введения. В другом варианте выполнения изобретения антитела к LAG-3 и к PD-1 составлены вместе. В другом варианте выполнения изобретения антитела к LAG-3 и к PD-1 составлены отдельно.

[0014] Настоящее изобретение также относится к способу ингибирования роста аденокарциномы желудка или аденокарциномы гастроэзофагеального перехода у пациента-человека, включающему введение пациенту эффективного количества каждого из: (а) антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ

ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5, (b) антитела к PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:17, и (c) одного или нескольких химиотерапевтических агентов, выбранных из группы, состоящей из оксалиплатина/капецитабина (XELOX), оксалиплатина/лейковорина/фторурацила (FOLFOX) и оксалиплатина/тегафура/гимерацила/отерацила (SOX), где иммунные клетки пациента, ассоциированные с опухолью, экспрессируют LAG-3.

[0015] Настоящее изобретение также относится к способу лечения рака желудка или рака гастроэзофагеального перехода у пациента-человека, включающему введение пациенту эффективного количества каждого из: (a) антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5, (b) антитела к PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:17, и (c) одного или нескольких химиотерапевтических агентов, выбранных из группы, состоящей из оксалиплатина/капецитабина (XELOX), оксалиплатина/лейковорина/фторурацила (FOLFOX) и оксалиплатина/тегафура/гимерацила/отерацила (SOX), где иммунные клетки пациента, ассоциированные с опухолью, экспрессируют LAG-3.

[0016] В одном варианте выполнения изобретения экспрессия LAG-3 анализируется с помощью RT-PCR, гибридизации *in situ*, защиты РНКазы, анализа на основе RT-PCR, иммуногистохимии, иммуноферментного анализа, визуализации *in vivo* или проточной цитометрии. В другом варианте выполнения изобретения экспрессия LAG-3 анализируется иммуногистохимией.

[0017] Настоящее изобретение также относится к способу лечения рака желудка или аденокарциномы гастроэзофагеального перехода у пациента-человека, включающему введение пациенту эффективного количества каждого из: (a) антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5, (b) антитела к PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:17, и (c) одного или нескольких химиотерапевтических агентов. В одном варианте выполнения изобретения способ

применяют к пациенту, который ранее не получал терапии (напр., в качестве терапии первой линии).

[0018] Настоящее изобретение также относится к способу лечения рецидивирующего, местнораспространенного или метастатического рака желудка или аденокарциномы гастроэзофагеального перехода пациента-человека, где способ включает введение пациенту эффективного количества: (а) антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5, и (b) одного или нескольких стандартных терапевтических режимов, где иммунные клетки пациента, ассоциированные с опухолью, экспрессируют LAG-3.

[0019] Настоящее изобретение также относится к способу лечения рецидивирующего, местнораспространенного или метастатического рака желудка или аденокарциномы гастроэзофагеального перехода у пациента-человека, включающему введение пациенту эффективного количества: (а) антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5, и (b) антитела к PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:17, и (c) один или несколько стандартных терапевтических режимов, где иммунные клетки пациента, ассоциированные с опухолью, экспрессируют LAG-3. Один аспект изобретения относится к способу лечения рецидивирующего, местнораспространенного или метастатического рака желудка или аденокарциномы гастроэзофагеального перехода у пациента-человека, включающему введение пациенту эффективного количества: (а) антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5, и (b) антитела к PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:17, и (c) одного или нескольких стандартных терапевтических режимов. В одном варианте выполнения изобретения антитела к LAG-3 и к PD-1 вводят в виде комбинации фиксированных доз. В другом варианте выполнения изобретения один или несколько стандартных терапевтических режимов включает введение доцетаксела, доксорубина гидрохлорида, 5-фторурацила, митомицина С, фторурацила/лейковорина кальция (FU-LV), доцетаксела/цисплатина/фторурацила (TPF) или капецитабина/иринотекана гидрохлорида (XELIRI). В другом варианте выполнения

изобретения способ применяют к пациенту, получавшему предшествующую терапию (напр., в качестве терапии второй линии). В одном варианте выполнения изобретения один или несколько стандартных терапевтических режимов включает введение доцетаксела, доксорубина гидрохлорида, 5-фторурацила, митомицина С, фторурацила/лейковорина кальция (FU-LV), доцетаксела/цисплатина/фторурацила (TPF) или капецитабина/иринотекана гидрохлорида (XELIRI).

[0020] Настоящее изобретение также относится к способу лечения рака желудка или рака гастроэзофагеального перехода у пациента-человека, включающему введение пациенту эффективного количества: (а) антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5, (b) антитела к PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:17, и (с) одного или нескольких химиотерапевтических агентов, выбранных из группы, состоящей из XELOX, FOLFOX и SOX. В вариантах выполнения изобретения способ применяют к пациенту, который не получал предшествующей терапии (напр., терапию первой линии). В некоторых вариантах выполнения изобретения пациент не получал терапию ингибиторами HER2. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ применяют к пациенту, который является отрицательным по HER2. В определенных вариантах выполнения изобретения пациент не получал никакого предшествующего систематического лечения. В конкретных вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 и антитело к PD-1 вводят в виде комбинации фиксированных доз. В вариантах выполнения изобретения рак желудка или рак гастроэзофагеального перехода является рецидивирующим, местнораспространенным или метастатическим раком желудка или гастроэзофагеальной аденокарциномой.

[0021] В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения антитело к LAG-3 представляет собой Релатлимаб. В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения антитело к LAG-3 содержит мутацию серина в пролин в аминокислотном остатке 228.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0022] В одном аспекте настоящее изобретение относится к усовершенствованному способу лечения злокачественных опухолей у пациента-человека. В частности, настоящее изобретение показывает, что введение антитела к LAG-3 в комбинации с антителом к PD-1 и одним или несколькими химиотерапевтическими агентами приводит к неожиданно улучшенным результатам лечения в популяции пациентов, имеющих положительную по LAG-3 злокачественную опухоль, чем в популяции, включающей пациентов, имеющих как положительные, так и отрицательные по LAG-3 опухоли.

Соответственно, в одном аспекте описанное в настоящем документе изобретение относится к способу лечения положительной по LAG-3 злокачественной опухоли (напр., аденокарциномы желудка или аденокарциномы гастроэзофагеального перехода) путем введения комбинации ингибитора LAG-3 (напр., антитела к LAG-3) и ингибитора пути PD-1 (напр., антитела к PD-1) и одного или нескольких химиотерапевтических агентов.

1. Определения

[0023] Для того чтобы настоящее раскрытие могло быть более понятным, сначала даются определения некоторым терминам. При использовании в настоящей заявке, если иное прямо не предусмотрено в настоящем документе, каждый из следующих терминов имеет значение, указанное ниже. Дополнительные определения указаны по тексту заявки.

[0024] «Антитело» (Ab) включает, без ограничения, гликопротеиновый иммуноглобулин, который специфически связывается с антигеном и содержит по меньшей мере две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные дисульфидными связями. Каждая цепь H содержит переменную область тяжелой цепи (сокращенно V_H) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит три константных домена, C_{H1} , C_{H2} и C_{H3} . Каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (сокращенно V_L) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи состоит из одного константного домена, C_L . Области V_H и V_L могут быть далее подразделены на области гипервариабельности, называемые областями, определяющими комплементарность (CDR), перемежающиеся с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). Каждая V_H и V_L содержит три CDR и четыре FR, расположенные от amino-конца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Переменные области тяжелой и легкой цепей содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Константные области антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, включая различные клетки иммунной системы (напр., эффекторные клетки) и первый компонент (C1q) классической системы комплемента. Тяжелая цепь может иметь C-концевой лизин или не иметь его. Если в настоящем документе не указано иное, аминокислоты в переменных областях нумеруются с использованием системы нумерации Kabat, а аминокислоты в константных областях нумеруются с использованием системы EU. В одном варианте выполнения изобретения антитело представляет собой интактное антитело.

[0025] Иммуноглобулин может быть получен из любого из широко известных изотипов, включая, но без ограничения, IgA, секреторный IgA, IgG и IgM. Подклассы IgG также хорошо известны специалистам в данной области техники и включают, но без ограничения, человеческие IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. «Изотип» относится к классу или подклассу антител (напр., IgM или IgG1), который кодируется генами константной области тяжелой цепи. Термин «антитело» включает, в качестве примера,

моноклональные и поликлональные антитела; химерные и гуманизированные антитела; человеческие или нечеловеческие антитела; полностью синтетические антитела; и одноцепочечные антитела. Нечеловеческое антитело может быть гуманизировано рекомбинантными способами для снижения его иммуногенности у человека. Если прямо не указано и если контекст не указывает на иное, термин «антитело» включает моноспецифические, биспецифические или мультиспецифические антитела, а также одноцепочечное антитело. В вариантах выполнения изобретения антитело представляет собой биспецифическое антитело. В других вариантах выполнения изобретения антитело представляет собой моноспецифическое антитело. В одном аспекте изотипом константной области является IgG4 с мутацией в аминокислотном остатке 228, напр., S228P.

[0026] Как используется в настоящем документе, «антитело IgG» имеет структуру встречающегося в природе антитела IgG, *т.е.* оно имеет такое же количество тяжелых и легких цепей и дисульфидных связей, как и встречающееся в природе антитело IgG того же подкласса. Например, антитело IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 к LAG-3 состоит из двух тяжелых цепей (HC) и двух легких цепей (LC), причем две тяжелые цепи и легкие цепи связаны одинаковым количеством и расположением дисульфидных мостиков, которые встречаются в природных антителах IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 соответственно (если только антитело не было мутировано для модификации дисульфидных связей).

[0027] «Выделенное антитело» относится к антителу, которое по существу свободно от других антител, имеющих различные антигенные особенности (*напр.*, выделенное антитело, которое специфически связывается с LAG-3, по существу свободно от антител, которые специфически связываются с антигенами, отличными от LAG-3). Выделенное антитело, которое специфически связывается с LAG-3, может, однако, иметь перекрестную реактивность к другим антигенам, таким как молекулы LAG-3 из разных видов. Более того, выделенное антитело может быть по существу свободным от других клеточных материалов и/или химических веществ.

[0028] Антитело может быть антителом, которое было изменено (*напр.*, путем мутации, делеции, замены, конъюгации с остатком, не являющимся антителом). Например, антитело может включать один или несколько вариантов аминокислот (по сравнению с встречающимся в природе антителом), которые изменяют свойство (*напр.*, функциональное свойство) антитела. Например, в данной области техники известны многочисленные изменения, которые влияют, *напр.*, на период полувыведения, эффекторную функцию и/или иммунные реакции на антитело у пациента. Термин антитело также включает искусственные полипептидные конструкции, которые содержат по меньшей мере один сайт связывания антигена, полученный из антитела.

[0029] Термин «моноклональное антитело» («mAb») относится к не встречающемуся в природе препарату молекул антитела одного молекулярного состава, *т.е.* молекул антитела, первичные последовательности которых по существу идентичны и которые проявляют единую специфичность связывания и аффинность к определенному эпитопу.

mAb является примером изолированного антитела. mAb могут быть получены гибридомными, рекомбинантными, трансгенными или другими методиками, известными специалистам в данной области техники.

[0030] Антитело «человека» (HuMAb) относится к антителу, имеющему переменные области, в которых как каркасные области, так и области CDR получены из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. Кроме того, если антитело содержит константную область, то константная область также получена из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. Антитела человека по изобретению могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулинов зародышевой линии человека (*напр.*, мутации, введенные случайным или сайт-специфическим мутагенезом *in vitro* или соматической мутацией *in vivo*). Однако термин «антитело человека», используемый в настоящем документе, не предназначен для включения антител, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии другого вида млекопитающих, такого как мышь, были привиты к каркасным последовательностям человека. Термины антитела «человека» и «полностью человеческие» антитела также используются как синонимы.

[0031] «Гуманизированное антитело» относится к антителу, в котором некоторые, большинство или все аминокислоты вне доменов CDR нечеловеческого антитела заменяются соответствующими аминокислотами, полученными из иммуноглобулинов человека. В одном варианте выполнения гуманизированной формы антитела некоторые, большинство или все аминокислоты вне доменов CDR были заменены аминокислотами из иммуноглобулинов человека, тогда как некоторые, большинство или все аминокислоты в пределах одной или нескольких областей CDR остаются неизменными. Небольшие добавления, делеции, вставки, замены или модификации аминокислот допустимы до тех пор, пока они не отменяют способность антитела связываться с конкретным антигеном. «Гуманизированное» антитело сохраняет антигенную специфичность, сходную с таковой для исходного антитела.

[0032] «Химерное антитело» относится к антителу, в котором переменные области получены из одного вида, а константные области получены из другого вида, например, к антителу, в котором переменные области получены из антитела мыши, а константные области получены из антитела человека.

[0033] Антитело «к антигену» относится к антителу, которое специфически связывается с антигеном. Например, антитело к LAG-3 специфически связывается с LAG-3.

[0034] «Антигенсвязывающая часть» антитела (также называемая «антигенсвязывающим фрагментом») относится к одному или нескольким фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном, связанным целым антителом. Было показано, что антигенсвязывающая функция антитела может быть представлена фрагментами или частями полноразмерного антитела. Примеры связывающих фрагментов, охватываемых термином

«антигенсвязывающая часть» или «антигенсвязывающий фрагмент» антитела, *напр.*, описанного в настоящем документе антитела к LAG-3, включают:

- (1) Fab-фрагмент (фрагмент от расщепления папаином) или аналогичный одновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, LC и CH1;
- (2) фрагмент F(ab')₂ (фрагмент от расщепления пепсином) или аналогичный двухвалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, соединенных дисульфидным мостиком в шарнирной области;
- (3) фрагмент Fd, состоящий из доменов VH и CH1;
- (4) фрагмент Fv, состоящий из доменов VL и VH одного плеча антитела;
- (5) фрагмент однодоменного антитела (dAb) (Ward *et al.*, (1989) *Nature* 341:544-46), который состоит из домена VH;
- (6) би-однодоменное антитело, которое состоит из двух доменов VH, соединенных шарниром (переориентирующиеся антитела с двойной аффинностью (DART));
- (7) иммуноглобулин с двойным переменным доменом;
- (8) изолированная определяющая комплементарность область (CDR); и
- (9) комбинация двух или более изолированных CDR, которые могут быть необязательно соединены синтетическим линкером. Кроме того, хотя два домена фрагмента Fv, VL и VH, кодируются отдельными генами, они могут быть соединены с помощью рекомбинантных способов синтетическим линкером, который позволяет им образовывать единую белковую цепь, в которой области VL и VH спариваются для образования одновалентных молекул (известных как одноцепочечный Fv (scFv); *см.*, *напр.*, Bird *et al.* (1988) *Science* 242:423-426; и Huston *et al.* (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883). Такие одноцепочечные антитела также предназначены для включения в термин «антигенсвязывающая часть» или «антигенсвязывающий фрагмент» антитела. Эти фрагменты антител получают с помощью обычных методик, известных специалистам в данной области техники, и фрагменты проверяют на пригодность таким же образом, как и интактные антитела. Антигенсвязывающие части могут быть получены методиками рекомбинантной ДНК или ферментативным или химическим расщеплением интактных иммуноглобулинов. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело представляет собой антигенсвязывающий фрагмент.

[0035] Термин «LAG-3» относится к Гену-3 Активации Лимфоцитов. Термин «LAG-3» включает варианты, изоформы, гомологи, ортологи и паралоги. Например, антитела, специфичные для белка LAG-3 человека, могут в определенных случаях перекрестно реагировать с белком LAG-3 из вида, отличного от человека. В других вариантах выполнения изобретения антитела, специфичные для белка LAG-3 человека, могут быть полностью специфичными для белка LAG-3 человека и не могут проявлять видовую или другие типы перекрестной реактивности или могут перекрестно реагировать с LAG-3 из определенных других видов, но не всех других видов (*напр.*, перекрестно реагировать с LAG-3 обезьяны, но не с LAG-3 мыши). Термин «LAG-3 человека» относится к последовательности LAG-3 человека, такой как полная аминокислотная

последовательность LAG-3 человека, имеющая Номер Доступа GenBank NP_002277. Термин «LAG-3 мыши» относится к последовательности LAG-3 мыши, такой как полная аминокислотная последовательность LAG-3 мыши, имеющая Номер Доступа GenBank NP_032505. LAG-3 также известен в данной области техники как, например, CD223. Последовательность LAG-3 человека может отличаться от последовательности LAG-3 человека с Номером Доступа GenBank NP_002277, имея, напр., консервативные мутации или мутации в неконсервативных областях, и LAG-3 имеет по существу ту же биологическую функцию, что и LAG-3 человека с Номером Доступа GenBank NP_002277. Например, биологическая функция LAG-3 человека имеет эпитоп во внеклеточном домене LAG-3, который специфически связывается антителом по настоящему раскрытию, или биологическая функция LAG-3 человека связывается с молекулами МНС Класса II.

[0036] Конкретная последовательность LAG-3 человека, как правило, будет по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности LAG-3 человека с Номером Доступа GenBank NP_002277 и содержит аминокислотные остатки, которые идентифицируют аминокислотную последовательность как человеческую по сравнению с аминокислотными последовательностями LAG-3 других видов (напр., мыши). В определенных случаях LAG-3 человека может быть по меньшей мере на 95%, или даже по меньшей мере на 96%, 97%, 98% или 99% идентична по аминокислотной последовательности с LAG-3 с Номером Доступа GenBank NP_002277. В определенных вариантах выполнения изобретения последовательность LAG-3 человека будет демонстрировать не более чем 10 аминокислотных отличий от последовательности LAG-3 с Номером Доступа GenBank NP_002277. В определенных вариантах выполнения изобретения LAG-3 человека может демонстрировать не более 5 или даже не более 4, 3, 2 или 1 аминокислотного отличия от последовательности LAG-3 с Номером Доступа GenBank NP_002277. Процент идентичности может быть определен так, как описано в настоящем документе.

[0037] Как используется в настоящем документе, термины «Запрограммированная Гибель 1», «Запрограммированная Гибель Клеток 1», «Белок PD-1», «PD-1», «PD1», «PDCD1», «hPD-1» и «hPD-I» используются взаимозаменяемо и включают варианты, изоформы, видовые гомологи PD-1 человека и аналоги, имеющие по меньшей мере один общий эпитоп с PD-1. Полную последовательность PD-1 можно найти с Номером Доступа GenBank U64863.

[0038] Белок Запрограммированной Гибели 1 (PD-1) является ингибирующим членом семейства CD28 рецепторов, которое также включает CD28, CTLA-4, ICOS и BTLA. PD-1 экспрессируется на активированных В-клетках, Т-клетках и миелоидных клетках (Agata *et al.*, *supra*; Okazaki *et al.* (2002) *Curr. Opin. Immunol.* 14: 391779-82; Bennett *et al.* (2003) *J Immunol* 170:711-8). Первые члены семейства, CD28 и ICOS, были обнаружены с помощью функциональных эффектов на усиление пролиферации Т-клеток после добавления моноклональных антител (Hutloff *et al.* *Nature* (1999); 397:263-266; Hansen *et*

al. Immunogenics (1980); 10:247-260). PD-1 был обнаружен путем скрининга на дифференциальную экспрессию в апоптотических клетках (Ishida *et al. EMBO J* (1992); 11:3887-95). Другие члены семейства, CTLA-4 и BTLA, были обнаружены путем скрининга на дифференциальную экспрессию в цитотоксических Т-лимфоцитах и клетках TH1 соответственно. CD28, ICOS и CTLA-4 имеют неспаренный остаток цистеина, позволяющий проводить гомодимеризацию. Напротив, предполагается, что PD-1 существует как мономер, лишенный неспаренного остатка цистеина, характерного для других членов семейства CD28.

[0039] Ген PD-1 представляет собой трансмембранный белок типа I 55 кДа, входящий в суперсемейство генов Ig (Agata *et al.* (1996) *Int Immunol* 8:765-72). PD-1 содержит мембранный проксимальный иммунорецепторный тирозиновый ингибиторный мотив (ITIM) и мембранный дистальный основанный на тирозине переключательный мотив (ITSM) (Thomas, M. L. (1995) *J Exp Med* 181:1953-6; Vivier, E and Daeron, M (1997) *Immunol Today* 18:286-91). Несмотря на структурное сходство с CTLA-4, PD-1 не имеет мотива MYPPY (SEQ ID NO:32), который имеет решающее значение для связывания B7-1 и B7-2. Были идентифицированы два лиганда для PD-1, PD-L1 и PD-L2, которые, как было показано, снижают активацию Т-клеток при связывании с PD-1 (Freeman *et al.* (2000) *J Exp Med* 192:1027-34; Latchman *et al.* (2001) *Nat Immunol* 2:261-8; Carter *et al.* (2002) *Eur J Immunol* 32:634-43). Как PD-L1, так и PD-L2 являются гомологами B7, которые связываются с PD-1, но не связываются с другими членами семейства CD28. PD-L1 имеется в избытке в различных видах рака человека (Dong *et al.* (2002) *Nat. Med.* 8:787-9). Взаимодействие между PD-1 и PD-L1 приводит к уменьшению инфильтрирующих опухоль лимфоцитов, снижению пролиферации, опосредованной Т-клеточными рецепторами, и уклонению раковых клеток от распознавания иммунной системой (Dong *et al.* (2003) *J. Mol. Med.* 81:281-7; Blank *et al.* (2005) *Cancer Immunol. Immunother.* 54:307-314; Konishi *et al.* (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:5094-100). Иммунная супрессия может быть обращена вспять путем ингибирования локального взаимодействия PD-1 с PD-L1, и эффект является аддитивным, когда также блокируется взаимодействие PD-1 с PD-L2 (Iwai *et al.* (2002) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 99:12293-7; Brown *et al.* (2003) *J. Immunol.* 170:1257-66).

[0040] Поскольку PD-1 является ингибирующим членом семейства CD28, у животных с дефицитом PD-1 развиваются различные аутоиммунные фенотипы, включая аутоиммунную кардиомиопатию и подобный волчанке синдром с артритом и нефритом (Nishimura *et al.* (1999) *Immunity* 11:141-51; Nishimura *et al.* (2001) *Science* 291:319-22). Кроме того, было обнаружено, что PD-1 играет роль в аутоиммунном энцефаломиелите, системной красной волчанке, болезни трансплантат-против-хозяина (GVHD), диабете I типа и ревматоидном артрите (Salama *et al.* (2003) *J Exp Med* 198:71-78; Prokunina and Alarcon-Riquelme (2004) *Hum Mol Genet* 13:R143; Nielsen *et al.* (2004) *Lupus* 13:510). Было показано, что в линии В-клеточных опухолей мыши ITSM PD-1 необходим для

блокирования опосредованного BCR потока Ca^{sup.2+}- и фосфорилирования тирозином нижестоящих эффекторных молекул (Okazaki *et al.* (2001) *PNAS* 98:13866-71).

[0041] «Лиганд-1 Запрограммированной Гибели (PD-L1)» представляет собой один из двух гликопротеиновых лигандов клеточной поверхности для PD-1 (другим является PD-L2), которые снижают активацию Т-клеток и секрецию цитокинов при связывании с PD-1. Термин «PD-L1», используемый в настоящем документе, включает PD-L1 человека (hPD-L1), варианты, изоформы и видовые гомологи hPD-L1 и 5 аналогов, имеющих по меньшей мере один общий эпитоп с hPD-L1. Полную последовательность hPD-L1 можно найти с Номером Доступа GenBank Q9NZQ7.

[0042] Термины «Лиганд-2 Запрограммированной Гибели» и «PD-L2», используемые в настоящем документе, включают PD-L2 человека (hPD-L2), варианты, изоформы и видовые гомологи hPD-L2, а также аналоги, имеющие по меньшей мере один общий эпитоп с hPD-L2. Полную последовательность hPD-L2 можно найти с Номером Доступа GenBank Q9BQ51.

[0043] Термин «пациент», используемый в настоящем документе, включает любого пациента, страдающего раком (напр., раком желудка или гастроэзофагеальным раком). Термины «субъект» и «пациент» в настоящем документе используются взаимозаменяемо.

[0044] «Введение» относится к физическому введению композиции, содержащей терапевтический агент, субъекту с использованием любого из различных способов и систем доставки, известных специалистам в данной области техники. Пути введения составов, раскрытых в настоящем документе, включают внутривенное, внутримышечное, подкожное, внутривнутрибрюшинное, спинномозговое или другие парентеральные пути введения, например, путем инъекции или инфузии. Фраза «парентеральное введение», используемая в настоящем документе, означает способы введения, иные, чем энтеральное и местное введение, обычно путем инъекции, и включают, без ограничения, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, интралимфатическую, внутриочаговую, интракапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, внутривнутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, эпидуральную и внутригрудинную инъекцию и инфузию, а также электропорацию *in vivo*. В некоторых вариантах выполнения изобретения, состав вводят непарентеральным путем, в некоторых вариантах выполнения, перорально. Другие непарентеральные пути включают местный, эпидермальный или слизистый путь введения, например, интраназально, вагинально, ректально, сублингвально или местно. Введение также может быть выполнено, например, один раз, несколько раз и/или в течение одного или нескольких длительных периодов.

[0045] «Лечение» или «терапия» субъекта относится к любому типу вмешательства или процесса, выполняемого на субъекте, или к введению активного агента субъекту с целью

обращения вспять, облегчения, улучшения, ингибирования, замедления прогрессирования, развития, тяжести или рецидива симптома, осложнения, или состояния, или биохимических признаков, связанных с заболеванием. Критерии Оценки Ответа В Солидных Опухолях (RECIST) являются мерой эффективности лечения и представляют собой установленные правила, определяющие, когда опухоли реагируют, стабилизируются или прогрессируют во время лечения. RECIST 1.1 представляет собой современное руководство по измерению солидных опухолей и определениям для объективной оценки изменения размера опухоли для использования в клинических испытаниях рака у взрослых и детей.

[0046] Как используется в настоящем документе, «эффективное лечение» относится к лечению, производящему благоприятный эффект, например, улучшение по меньшей мере одного симптома заболевания или расстройства. Благоприятный эффект может принимать форму улучшения по сравнению с исходным уровнем, то есть улучшения по сравнению с измерением или наблюдением, сделанным до начала терапии в соответствии с данным способом. Благоприятный эффект может также принимать форму остановки, замедления, торможения или стабилизации вредного прогрессирования маркера солидной опухоли. Эффективное лечение может относиться к облегчению по меньшей мере одного симптома солидной опухоли. Такое эффективное лечение может, напр., уменьшить боль пациента, уменьшить размер и/или количество поражений, может уменьшить или предотвратить метастазирование опухоли и/или может замедлить рост опухоли.

[0047] Термин «эффективное количество» относится к количеству агента, которое обеспечивает желаемый биологический, терапевтический и/или профилактический результат. Этот результат может быть уменьшением, улучшением, смягчением, ослаблением, задержкой и/или облегчением одного или нескольких признаков, симптомов или причин заболевания или любым другим желательным изменением биологической системы. В отношении солидных опухолей эффективное количество включает количество, достаточное для того, чтобы вызвать сокращение опухоли и/или уменьшить скорость роста опухоли (например, подавить рост опухоли) или задержать другую нежелательную клеточную пролиферацию. В некоторых вариантах выполнения изобретения эффективное количество представляет собой количество, достаточное для предотвращения или задержки рецидива опухоли. Эффективное количество может быть введено за одно или несколько введений. Эффективное количество лекарственного средства или композиции может: (i) уменьшить количество раковых клеток; (ii) уменьшить размер опухоли; (iii) ингибировать, тормозить, замедлять в некоторой степени и может остановить инфильтрацию раковых клеток в периферические органы; (iv) ингибировать (т.е. замедлять в некоторой степени и может остановить метастазирование опухоли; (v) ингибировать рост опухоли; (vi) предотвращать или задерживать возникновение и/или рецидив опухоли; и/или (vii) облегчать в некоторой степени один или несколько симптомов, связанных с раком. В одном примере

«эффективное количество» представляет собой количество антитела к LAG-3, количество антитела к PD-1 и количество химиотерапевтических агентов в комбинации, которое, как клинически доказано, влияет на значительное снижение рака или замедление прогрессирования рака, такого как прогрессирующая солидная опухоль. Как используется в настоящем документе, термины «фиксированная доза», «плоская доза» и «плоская фиксированная доза» используются взаимозаменяемо и относятся к дозе, которая вводится пациенту без учета веса или площади поверхности тела (BSA) пациента. Поэтому фиксированная или плоская доза предоставляется не в виде дозы мг/кг, а скорее в виде абсолютного количества агента (напр., антитела к LAG-3 и/или антитела к PD-1). Например, человек весом 60 кг и человек весом 100 кг получали бы одинаковую дозу композиции (напр., 360 мг антитела к PD-1 и 120 мг антитела к LAG-3 в одном флаконе с фиксированной дозировкой, содержащем как 360 мг антитела к PD-1, так и 120 мг антитела к LAG-3 (или в двух флаконах с фиксированной дозировкой, содержащих 180 мг антитела к PD-1 и 60 мг антитела к LAG-3 и т.д.)).

[0048] Использование термина «комбинация с фиксированной дозой» в отношении композиции по изобретению означает, что два или более различных антитела в одной композиции присутствуют в композиции в определенных (фиксированных) соотношениях друг с другом. В некоторых вариантах выполнения изобретения фиксированная доза основана на весе (*напр.*, мг) антител. В определенных вариантах выполнения изобретения фиксированная доза основана на концентрации (*напр.*, мг/мл) антител. В некоторых вариантах выполнения изобретения соотношение составляет, по меньшей мере, около 1:1, около 1:2, около 1:3, около 1:4, около 1:5, около 1:6, около 1:7, около 1:8, около 1:9, около 1:10, около 1:15, около 1:20, около 1:30, около 1:40, около 1:50, около 1:60, около 1:70, около 1:80, около 1:90, около 1:100, около 1:120, около 1:140, около 1:160, около 1:180, около 1:200, около 200:1, около 180:1, около 160:1, около 140:1, около 120:1, около 100:1, около 90:1, около 80:1, около 70:1, около 50:1, около 40:1, около 30:1, около 20:1, около 15:1, около 10:1, около 9:1, около 8:1, около 7:1, около 6:1, около 5:1, около 4:1, около 3:1 или около 2:1 мг первого антитела к мг второго антитела. Например, соотношение 3:1 первого антитела и второго антитела может означать, что флакон может содержать около 240 мг первого антитела и 80 мг второго антитела или около 3 мг/мл первого антитела и 1 мг/мл второго антитела.

[0049] Термин «доза на основе веса», упомянутый в настоящем документе, означает, что доза, которая вводится пациенту, рассчитывается на основе веса пациента. Например, когда пациенту с массой тела 60 кг требуется 3 мг/кг антитела к LAG-3 в комбинации с 3 мг/кг антитела к PD-1, можно получить соответствующие количества антитела к LAG-3 (т.е. 180 мг) и антитела к PD-1 (т.е. 180 мг) одновременно из комбинации с фиксированной дозой 1:1 антитела к LAG3 и антитела к PD-1.

[0050] Термин «выживаемость без прогрессирования», который может быть сокращен как PFS, используемый в настоящем документе, относится к отрезку времени во время и

после лечения солидной опухоли (*т.е.*, меланомы), в течение которого пациент живет с болезнью, но она не ухудшается.

[0051] «Интервал дозирования», используемый в настоящем документе, означает количество времени, которое проходит между несколькими дозами состава, описанного в настоящем документе, вводимого субъекту. Таким образом, интервал дозирования может быть указан в виде диапазонов.

[0052] Термин «частота дозирования», используемый в настоящем документе, относится к частоте введения доз состава, раскрытого в настоящем документе, в данный момент времени. Частота дозирования может быть указана как количество доз в данный момент времени, *напр.*, один раз в неделю или один раз в две недели.

[0053] Термины «около одного раза в неделю», «один раз в примерно неделю», «один раз в примерно две недели» или любые другие аналогичные термины интервала дозирования, используемые в настоящем документе, означают приблизительное число, а «около одного раза в неделю» или «один раз в примерно неделю» могут включать каждые семь дней $\pm$ два дня, *т.е.* от каждых пяти дней до каждых девяти дней. Таким образом, частота дозирования «один раз в неделю» может быть каждые пять дней, каждые шесть дней, каждые семь дней, каждые восемь дней или каждые девять дней. «Около одного раза в две недели» может включать каждые четырнадцать дней $\pm$ три дня, *т.е.* от каждых одиннадцати дней до каждых семнадцати дней. Подобные приближения применимы, например, для один раз в примерно три недели, один раз в примерно четыре недели, один раз в примерно пять недель, один раз в примерно шесть недель и один раз в примерно двенадцать недель. В некоторых вариантах выполнения изобретения интервал дозирования один раз в примерно каждые шесть недель или один раз в примерно каждые двенадцать недель означает, что первая доза может быть введена в любой день на первой неделе, а затем следующая доза может быть введена в любой день на шестой или двенадцатой неделе соответственно. В других вариантах выполнения изобретения интервал дозирования один раз в примерно каждые шесть недель или один раз в примерно каждые двенадцать недель означает, что первая доза вводится в определенный день первой недели (*напр.*, понедельник), а затем следующая доза вводится в тот же день шестой или двенадцатой недели (*т.е.*, понедельник) соответственно.

[0054] Под «раком» понимается широкая группа различных заболеваний, характеризующихся неконтролируемым ростом аномальных клеток в организме. Нерегулируемое деление и рост клеток приводит к образованию злокачественных опухолей, которые проникают в соседние ткани, а также могут метастазировать в отдаленные части тела через лимфатическую систему или кровоток. «Рак» или «раковая ткань» может включать опухоль. «Рак желудочно-кишечного тракта» и «рак желудка» используются в настоящем документе взаимозаменяемо. Как используется в настоящем документе, «рак желудочно-кишечного тракта» может развиваться в любой части желудка и может распространиться по всему желудку и на другие органы. Он может расти вдоль

стенки желудка в пищевод или тонкую кишку. Рак может также выйти через стенку желудка и распространиться на близлежащие лимфатические узлы и органы, такие как печень, поджелудочная железа и толстая кишка. Он может распространяться на отдаленные органы, такие как легкие, лимфатические узлы над ключицей и яичники женщины. К различным типам рака желудка относятся аденокарциномы, лимфомы, стромальные опухоли желудочно-кишечного тракта (GIST) и карциноидные опухоли.

[0055] Термин «опухоль», используемый в настоящем документе, относится к любой массе ткани, которая является результатом чрезмерного роста или пролиферации клеток, либо доброкачественных (нераковых), либо злокачественных (раковых), включая предраковые поражения.

[0056] Термин «положительный по LAG-3» или «положительный по экспрессии LAG-3», относящийся к экспрессии LAG-3, относится к доле клеток в тестируемом образце ткани, содержащем опухолевые клетки и инфильтрирующие опухоль воспалительные клетки, выше которых образец ткани оценивается как экспрессирующий LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения для экспрессии LAG-3, анализируемой иммуногистохимией (ИHC), положительная по LAG-3 опухоль или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль означает, что по меньшей мере около 0,01%, по меньшей мере около 0,5%, по меньшей мере около 1%, по меньшей мере около 2%, по меньшей мере около 3%, по меньшей мере около 4%, по меньшей мере около 5%, по меньшей мере около 6%, по меньшей мере около 7%, по меньшей мере около 8%, по меньшей мере около 9%, по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере, около 30%, по меньшей мере, около 40%, по меньшей мере, около 50%, по меньшей мере, около 60%, по меньшей мере, около 70%, по меньшей мере, около 80%, по меньшей мере, около 90% или 100% от общего числа клеток экспрессируют LAG-3. В других вариантах выполнения изобретения для экспрессии LAG-3, анализируемой иммуногистохимией (ИHC) или проточной цитометрией, положительная по LAG-3 опухоль или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль означает, что по меньшей мере около 0,01%, по меньшей мере около 0,5%, по меньшей мере около 1%, по меньшей мере около 2%, по меньшей мере около 3%, по меньшей мере около 4%, по меньшей мере около 5%, по меньшей мере около 6%, по меньшей мере около 7%, по меньшей мере около 8%, по меньшей мере около 9%, по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90% или 100% от общего числа ассоциированных с опухолью воспалительных клеток (напр., Т-клеток, Т-клеток CD8+, Т-клеток CD4+, клеток FOXP3+) экспрессируют LAG-3. Положительная по LAG-3 опухоль или положительная по экспрессии LAG-3 опухоль также может быть обозначена в настоящем документе как опухоль, экспрессирующая LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3

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

[0057] «Отрицательная по LAG-3» или «отрицательная по экспрессии LAG-3» относится к доле клеток в тестируемом образце ткани, содержащем опухолевые клетки и

инфильтрирующие опухоль воспалительные клетки, которая не является положительной по LAG-3 или положительной по экспрессии LAG-3.

[0058] Термин «положительная по PD-L1» или «положительная по экспрессии PD-L1», относящийся к экспрессии PD-L1 на клеточной поверхности, относится к доле клеток в тестируемом образце ткани, содержащем опухолевые клетки и инфильтрирующие опухоль воспалительные клетки, выше которых образец оценивается как экспрессирующий PD-L1 на клеточной поверхности. Для экспрессии клеточной поверхности, анализируемой иммуногистохимией (ИHC), напр., с помощью mAb 28-8, положительная по PD-L1 опухоль или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль означает, что по меньшей мере около 0,01%, по меньшей мере около 0,5%, по меньшей мере около 1%, по меньшей мере около 2%, по меньшей мере около 3%, по меньшей мере около 4%, по меньшей мере около 5%, по меньшей мере около 6%, по меньшей мере около 7%, по меньшей мере около 8%, по меньшей мере около 9%, по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25% или по меньшей мере около 30% от общего числа клеток экспрессируют PD-L1. Положительная по PD-L1 опухоль или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль также может быть обозначена в настоящем документе как опухоль, экспрессирующая PD-L1. В других вариантах выполнения изобретения положительная по PD-L1 опухоль или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль означает, что по меньшей мере от 0,1% до по меньшей мере около 20% от общего числа клеток экспрессируют PD-L1. В конкретных вариантах выполнения изобретения положительная по PD-L1 опухоль или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль означает, что по меньшей мере от 0,1% до по меньшей мере около 10% от общего числа клеток экспрессируют PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по PD-L1 опухоль или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль означает, что по меньшей мере около 1% от общего числа клеток экспрессируют PD-L1 на клеточной поверхности. В других вариантах выполнения изобретения положительная по PD-L1 опухоль или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль означает, что по меньшей мере около 5% от общего числа клеток экспрессируют PD-L1 на клеточной поверхности. В одном конкретном варианте выполнения изобретения положительная по PD-L1 опухоль или положительная по экспрессии PD-L1 опухоль означает, что по меньшей мере около 1% или в диапазоне 1 - 5% от общего числа клеток экспрессируют PD-L1 на клеточной поверхности.

[0059] Термин «отрицательная по PD-L1» или «отрицательная по экспрессии PD-L1», относящийся к экспрессии PD-L1 на клеточной поверхности, относится к доле клеток в тестируемом образце ткани, содержащем опухолевые клетки и инфильтрирующие опухоль воспалительные клетки, которые не являются положительными по PD-L1 или положительными по экспрессии PD-L1.

[0060] Термин «оцениваемый статус экспрессии PD-L1» относится к измеряемому уровню экспрессии PD-L1, как правило, $\geq 5\%$ или $< 5\%$.

[0061] Термин «опухолевая мутационная нагрузка» (ТМВ), используемый в настоящем документе, относится к числу соматических мутаций в геноме опухоли и/или числу соматических мутаций на область генома опухоли. Зародышевые (наследственные) варианты исключаются при определении ТМВ, поскольку иммунная система имеет более высокую вероятность распознать их как собственные. Опухолевая мутационная нагрузка (ТМВ) также может использоваться взаимозаменяемо с «опухолевой мутационной загрузкой», «опухолевой мутационной нагрузкой» или «опухолевой мутирующей загрузкой».

[0062] ТМВ представляет собой генетический анализ генома опухоли и, таким образом, может быть измерен путем применения способов секвенирования, хорошо известных специалистам в данной области техники. ДНК опухоли можно сравнивать с ДНК нормальной ткани от пациента для того, чтобы исключить мутации или полиморфизмы зародышевой линии.

[0063] В некоторых вариантах выполнения изобретения ТМВ определяется путем секвенирования опухолевой ДНК с использованием методики высокопроизводительного секвенирования, *напр.*, секвенирования нового поколения (NGS) или способа на основе NGS. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ, основанный на NGS, выбирается из секвенирования всего генома (WGS), секвенирования всего экзона (WES) или комплексного геномного профилирования (CGP) панелей генов рака, таких как клинические тесты FOUNDATIONONE® CDX™ и MSK-IMPACT. В некоторых вариантах выполнения изобретения ТМВ, как используется в настоящем документе, относится к числу соматических мутаций на мегабазу (Mb) секвенированной ДНК. В одном варианте выполнения изобретения ТМВ измеряется с использованием общего числа несинонимичных мутаций, *напр.*, миссенс-мутаций (*m.e.* с изменением конкретной аминокислоты в белке) и/или нонсенс (вызывающей преждевременную терминацию и, следовательно, усечение белковой последовательности), идентифицируемых путем нормализации сопоставленной опухоли с образцами зародышевой линии для исключения любых наследственных генетических изменений зародышевой линии. В другом варианте выполнения изобретения ТМВ измеряется с использованием общего числа миссенс-мутаций в опухоли. Для того чтобы измерить ТМВ, требуется достаточное количество образца. В одном варианте выполнения изобретения для оценки используется образец ткани (*напр.*, минимум 10 срезов). В некоторых вариантах выполнения изобретения ТМВ выражается как NsM на мегабазу (NsM/Mb). 1 мегабаза представляет собой 1 миллион баз.

[0064] Статус ТМВ может быть числовым значением или относительным значением, *напр.*, высоким, средним или низким; в пределах самого высокого фрактила или в пределах верхнего тертила референсного набора.

[0065] Термин «высокая ТМВ», используемый в настоящем документе, относится к числу соматических мутаций в геноме опухоли, которые превышают число соматических мутаций, которые являются нормальными или средними. В некоторых

вариантах выполнения изобретения ТМВ имеет балл по меньшей мере 210, по меньшей мере 215, по меньшей мере 220, по меньшей мере 225, по меньшей мере 230, по меньшей мере 235, по меньшей мере 240, по меньшей мере 245, по меньшей мере 250, по меньшей мере 255, по меньшей мере 260, по меньшей мере 265, по меньшей мере 270, по меньшей мере 275, по меньшей мере 280, по меньшей мере 285, по меньшей мере 290, по меньшей мере 295, по меньшей мере 300, по меньшей мере 305, по меньшей мере 310, по меньшей мере 315, по меньшей мере 320, по меньшей мере 325, по меньшей мере 330, по меньшей мере 335, по меньшей мере 340, по меньшей мере 345, по меньшей мере 350, по меньшей мере 355, по меньшей мере 360, по меньшей мере 365, по меньшей мере 370, по меньшей мере 375, по меньшей мере 380, по меньшей мере 385, по меньшей мере 390, по меньшей мере 395, по меньшей мере 400, по меньшей мере 405, по меньшей мере 410, по меньшей мере 415, по меньшей мере 420, по меньшей мере 425, по меньшей мере 430, по меньшей мере 435, по меньшей мере 440, по меньшей мере 445, по меньшей мере 450, по меньшей мере 455, по меньшей мере 460, по меньшей мере 465, по меньшей мере 470, по меньшей мере 475, по меньшей мере 480, по меньшей мере 485, по меньшей мере 490, по меньшей мере 495 или по меньшей мере 500; в других вариантах выполнения изобретения высокая ТМВ имеет балл по меньшей мере по меньшей мере 221, по меньшей мере 222, по меньшей мере 223, по меньшей мере 224, по меньшей мере 225, по меньшей мере 226, по меньшей мере 227, по меньшей мере 228, по меньшей мере 229, по меньшей мере 230, по меньшей мере 231, по меньшей мере 232, по меньшей мере 233, по меньшей мере 234, по меньшей мере 235, по меньшей мере 236, по меньшей мере 237, по меньшей мере 238, по меньшей мере 239, по меньшей мере 240, по меньшей мере 241, по меньшей мере 242, по меньшей мере 243, по меньшей мере 244, по меньшей мере 245, по меньшей мере 246, по меньшей мере 247, по меньшей мере 248, по меньшей мере 249 или по меньшей мере 250; и в конкретном варианте выполнения изобретения высокая ТМВ имеет балл по меньшей мере 243. В других вариантах выполнения изобретения «высокая ТМВ» относится к ТМВ в пределах самого высокого фрактила референсного значения ТМВ. Например, все субъекты с оцениваемыми данными ТМВ группируются в соответствии с фрактильным распределением ТМВ, *т.е.* субъекты ранжируются от самого высокого до самого низкого числа генетических изменений и делятся на определенное количество групп. В одном варианте выполнения изобретения все субъекты с оцениваемыми данными ТМВ упорядочиваются по рангам и делятся на трети, а «высокая ТМВ» находится в пределах верхнего тертиля референсного значения ТМВ. В конкретном варианте выполнения изобретения границы тертиля составляют $0 < 100$ генетических изменений; от 100 до 243 генетических изменений; и > 243 генетических изменений. Следует понимать, что после упорядочения рангов испытуемые с оцениваемыми данными ТМВ могут быть разделены на любое количество групп, напр., квартили, квинтили и т.д. В некоторых вариантах выполнения изобретения «высокая ТМВ» относится к ТМВ с по меньшей мере около 20 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 25 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 30 мутаций/опухоль, по меньшей мере

около 35 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 40 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 45 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 50 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 55 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 60 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 65 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 70 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 75 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 80 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 85 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 90 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 95 мутаций/опухоль или по меньшей мере около 100 мутаций/опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения «высокая TMB» относится к TMB с по меньшей мере около 105 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 110 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 115 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 120 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 125 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 130 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 135 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 140 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 145 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 150 мутаций/опухоль, по меньшей мере около 175 мутаций/опухоль или по меньшей мере около 200 мутаций/опухоль. В определенных вариантах выполнения изобретения опухоль, имеющая высокую TMB, имеет по меньшей мере около 100 мутаций/опухоль.

[0066] «Высокая TMB» также может быть названа числом мутаций на мегабазу секвенированного генома, *напр.*, измеренным с помощью мутационного анализа, *напр.*, анализа FOUNDATIONONE® CDX™. В одном варианте выполнения изобретения высокая TMB относится по меньшей мере к около 9, по меньшей мере к около 10, по меньшей мере к около 11, по меньшей мере к около 12, по меньшей мере к около 13, по меньшей мере к около 14, по меньшей мере к около 15, по меньшей мере к около 16, по меньшей мере к около 17, по меньшей мере к около 18, по меньшей мере к около 19 или по меньшей мере к около 20 мутациям на мегабазу генома, измеренным с помощью анализа FOUNDATIONONE® CDX™. В конкретном варианте выполнения изобретения «высокая TMB» относится по меньшей мере к 10 мутациям на мегабазу генома, секвенированного с помощью анализа FOUNDATIONONE® CDX™.

[0067] Как используется в настоящем документе, термин «средняя TMB» относится к числу соматических мутаций в геноме опухоли, которые находятся на уровне или вокруг числа соматических мутаций, которые являются нормальными или средними, а термин «низкая TMB» относится к числу соматических мутаций в геноме опухоли, которые находятся ниже числа соматических мутаций, которые являются нормальными или средними. В конкретном варианте выполнения изобретения «высокая TMB» имеет балл по меньшей мере 243, «средний TMB» имеет балл от 100 до 242, а «низкая TMB» имеет балл менее чем 100 (или от 0 до 100). «Средняя или низкая TMB» относится к менее чем 9 мутациям на мегабазу секвенированного генома, *напр.*, измеренным с помощью анализа FOUNDATIONONE® CDX™.

[0068] Микросателлитная нестабильность представляет собой состояние генетической гипермутативности, возникающее в результате репарации ошибок (MMR) поврежденной

ДНК. Наличие MSI представляет собой фенотипическое свидетельство того, что MMR не функционирует нормально. В большинстве случаев генетической основой нестабильности в опухолях MSI является наследственное изменение зародышевой линии в любом из пяти генов MMR человека: MSH2, MLH1, MSH6, PMS2 и PMS1. В некоторых вариантах выполнения изобретения субъект, получающий лечение опухоли, имеет высокую степень микросателлитной нестабильности (MSI-H) и имеет по меньшей мере одну мутацию в генах MSH2, MLH1, MSH6, PMS2 или PMS1. В других вариантах выполнения изобретения субъекты, получающие лечение опухоли в контрольной группе, не имеют микросателлитной нестабильности (MSS или стабильные MSI) и не имеют мутаций в генах MSH2, MLH1, MSH6, PMS2 и PMS1.

[0069] «Иммунный ответ» относится к действию клетки иммунной системы (например, Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, естественных киллерных (NK) клеток, макрофагов, эозинофилов, тучных клеток, дендритных клеток и нейтрофилов) и растворимых макромолекул, продуцируемых любой из этих клеток или печенью (включая антитела, цитокины и комплемент), которое приводит к избирательному нацеливанию, связыванию, повреждению, разрушению и/или элиминации вторгающихся патогенов из организма позвоночного, клеток или тканей, инфицированных патогенами, раковых или других аномальных клеток или в случаях аутоиммунитета или патологического воспаления, нормальных человеческих клеток или тканей.

[0070] «Инфильтрирующая опухоль воспалительная клетка» или «ассоциированная с опухолью воспалительная клетка» представляет собой любой тип клетки, которая обычно участвует в воспалительной реакции у субъекта и которая инфильтрирует опухолевую ткань. К таким клеткам относятся инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL), макрофаги, моноциты, эозинофилы, гистиоциты и дендритные клетки.

[0071] Использование альтернативы (*напр.*, «или») следует понимать как означающее либо одну, либо обе альтернативы, либо любую их комбинацию. Как используется в настоящем документе, неопределенные артикли «а» или «an» следует понимать как относящиеся к «одному или нескольким» любого перечисляемого или пронумерованного компонента.

[0072] Термин «и/или», используемый в настоящем документе, следует понимать как конкретное раскрытие каждого из двух указанных признаков или компонентов с или без другого. Таким образом, термин «и/или», используемый в такой фразе, как «А и/или В» в настоящем документе, предназначен для включения «А и В», «А или В», «А» (отдельно) и «В» (отдельно). Точно так же термин «и/или», используемый в такой фразе, как «А, В и/или С», предназначен для охвата каждого из следующих аспектов: А, В и С; А, В или С; А или В; В или С; А и С; А и В; В и С; А (один); В (один); и С (один).

[0073] Подразумевается, что везде, где аспекты описываются в настоящем документе с помощью конструкции «содержащий», также предоставляются аналогичные аспекты, описанные в терминах «состоящий из» и/или «состоящий по существу из».

[0074] Термины «около» или «состоящий по существу из» относятся к значению или композиции, которая находится в пределах допустимого диапазона погрешности для конкретного значения или композиции, определенного средним специалистом в данной области техники, что будет отчасти зависеть от того, как измеряется или определяется значение или композиция, *т.е.* от ограничений измерительной системы. Например, «около» или «состоящий по существу из» может означать в пределах 1 или более чем 1 стандартного отклонения в соответствии с практикой в данной области техники. Альтернативно «около» или «состоящий по существу из» может означать диапазон вплоть до 10% или 20% (*т.е.* $\pm 10\%$ или $\pm 20\%$). Например, около 3 мг может включать любое количество от 2,7 мг до 3,3 мг (для 10%) или от 2,4 мг до 3,6 мг (для 20%). Кроме того, особенно в отношении биологических систем или процессов эти термины могут означать вплоть до порядка величины или вплоть до 5-кратной величины. Когда в заявке и формуле изобретения указаны конкретные значения или композиции, если не указано иное, значение слов «около» или «состоящий по существу из» следует считать находящимся в пределах допустимого диапазона погрешностей для этого конкретного значения или композиции.

[0075] Как описано в настоящем документе, под любым диапазоном концентрации, процентным диапазоном, диапазоном отношения или целым диапазоном следует понимать значение любого целого числа в пределах указанного диапазона и, когда это уместно, его доли (такие как одна десятая и одна сотая целого числа), если не указано иное.

[0076] Если не определено иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют те же значения, что и обычно понимаемые средним специалистом в данной области техники, к которой относится это раскрытие. Например, Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 5th ed., 2013, Academic Press; и Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, 2006, Oxford University Press предоставляют среднему специалисту основной словарь для многих терминов, используемых в этом раскрытии.

[0077] Единицы, префиксы и символы обозначаются в их принятой форме *Système International de Unites* (СИ). Числовые диапазоны включают в себя числа, определяющие диапазон. Заголовки, представленные в настоящем документе, не являются ограничениями различных аспектов раскрытия, которые могут быть получены путем ссылки на описание в целом. Соответственно, термины, определенные непосредственно ниже, более полно определяются ссылкой на описание в целом.

[0078] Различные аспекты изобретения более подробно описаны в следующих подразделах.

2. Способы по Изобретению

[0079] В одном аспекте настоящее изобретение направлено на способ лечения положительной по LAG-3 злокачественной опухоли (напр., рака желудка или рака гастроэзофагеального перехода) у субъекта, нуждающегося в этом. Комбинированная терапия ингибитором LAG-3 (напр., антителом к LAG-3), ингибитором пути PD-1 (напр., антителом к PD-1) и одним или несколькими химиотерапевтическими агентами приводит к лучшим терапевтическим результатам (напр., частоте объективного ответа и частоте контроля заболевания) в популяции пациентов с положительными по LAG-3 злокачественными опухолями (напр., опухолью желудка или опухолью гастроэзофагеального перехода), чем в общей популяции пациентов со смесью отрицательных по LAG-3 злокачественных опухолей и положительных по LAG-3 злокачественных опухолей. Для улучшения лечения злокачественных опухолей в одном аспекте настоящее изобретение относится к идентификации пациента как имеющего положительную по LAG-3 опухоль и обеспечение иммунотерапии ингибитором LAG-3 (напр., антителом к LAG-3), ингибитором пути PD-1 (напр., антителом к PD-1) и одним или несколькими химиотерапевтическими агентами.

[0080] Один аспект изобретения относится к способу ингибирования роста злокачественной опухоли у пациента-человека, где способ включает введение пациенту эффективного количества каждого из: (а) антагониста LAG-3; (b) ингибитора пути PD-1; и (с) одного или нескольких химиотерапевтических агентов. Другой аспект изобретения относится к способу лечения рака у пациента-человека, включающему введение пациенту эффективного количества каждого из: (а) антагониста LAG-3; (b) ингибитора пути PD-1; и (с) одного или нескольких химиотерапевтических агентов. Один аспект изобретения относится к способу лечения рецидивирующего, местнораспространенного или метастатического рака желудка или аденокарциномы гастроэзофагеального перехода у пациента-человека, включающему введение пациенту эффективного количества: (а) антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5, и (b) антитела к PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:17, и (с) одного или нескольких стандартных терапевтических режимов. В одном варианте выполнения настоящее изобретение относится к способу лечения рака желудка или рака гастроэзофагеального перехода у пациента-человека, включающему введение пациенту эффективного количества: (а) антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5, (b) антитела к PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи,

имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:17, и (с) одного или нескольких химиотерапевтических агентов, выбранных из группы, состоящей из XELOX, FOLFOX и SOX. В одном варианте выполнения изобретение включает способ отбора злокачественной опухоли у пациента-человека для иммунотерапии, включающий: (а) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и (b) выбор опухоли для иммунотерапии, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью. В одном варианте выполнения изобретение включает способ идентификации злокачественной опухоли у пациента-человека как подходящей для иммунотерапии, включающий: (а) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и (b) идентификацию опухоли как подходящей для иммунотерапии, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью. В одном варианте выполнения изобретение включает способ идентификации злокачественной опухоли у пациента-человека, которая, вероятно, будет реагировать на иммунотерапию, где способ включает: (а) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и (b) идентификацию опухоли, которая, вероятно, будет реагировать на лечение, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью. В одном варианте выполнения изобретение включает способ идентификации злокачественной опухоли у пациента-человека, которая, вероятно, будет реагировать на иммунотерапию, где способ включает: (а) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и (b) идентификацию опухоли, которая, вероятно, будет реагировать на лечение, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью. В одном варианте выполнения изобретение включает способ классификации злокачественной опухоли у пациента-человека как, вероятно, реагирующей на иммунотерапию, где способ включает: (а) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и (b) классификацию опухоли как, вероятно, реагирующую на иммунотерапию, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора LAG-3, ингибитора пути PD-1 и одного или нескольких химиотерапевтических агентов. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело к LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело к PD-1. В определенных вариантах выполнения изобретения любой из настоящих способов дополнительно включает определение экспрессии PD-L1 в образце опухоли.

[0081] В одном варианте выполнения изобретение включает способ идентификации пациента со злокачественной опухолью, который, вероятно, ответит на иммунотерапию, где способ включает: (а) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и (b) идентификацию пациента, который, вероятно, ответит на лечение, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью. В одном варианте выполнения изобретение включает способ выбора пациента со злокачественной опухолью для иммунотерапии,

включающий: (а) определение уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли; и (b) отбор пациента для иммунотерапии, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает контактирование опухоли с терапевтически эффективным количеством ингибитора LAG-3, ингибитора пути PD-1 и одного или нескольких химиотерапевтических агентов. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело к LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело к PD-1. В определенных вариантах выполнения изобретения любой из настоящих способов дополнительно включает определение экспрессии PD-L1 в образце опухоли.

[0082] В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, включающий: введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе; при этом прогнозируется, что пациент ответит на лечение ингибитором LAG-3, ингибитором пути PD-1 и химиотерапевтическими агентами на основе экспрессии LAG-3 или на основе экспрессии LAG-3 и PD-L1 в образце опухоли пациента. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело к LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело к PD-1.

[0083] В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения опухоли у пациента-человека, включающий: введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе; при этом прогнозируется, что пациент ответит на лечение ингибитором LAG-3, ингибитором пути PD-1 и химиотерапевтическими агентами на основе наличия статуса высокой опухолевой мутационной нагрузки (TMB). В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения рака у пациента-человека, включающий: введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе; при этом прогнозируется, что пациент ответит на лечение ингибитором LAG-3, ингибитором пути PD-1 и химиотерапевтическими агентами на основании наличия статуса высокой опухолевой мутационной нагрузки (TMB). В вариантах выполнения изобретения рак представляет собой рак желудка или рак гастроэзофагеального перехода.

[0084] В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения опухоли у пациента-человека, включающий: введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе; при этом прогнозируется, что пациент ответит на лечение ингибитором LAG-3, ингибитором пути PD-1 и химиотерапевтическими агентами на основании наличия высокой степени микросателлитной нестабильности (MSI-H). В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения рака у пациента-человека, включающий: введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе; при этом прогнозируется, что пациент ответит на лечение ингибитором LAG-3, ингибитором пути PD-1 и химиотерапевтическими агентами на основании наличия высокой степени микросателлитной нестабильности (MSI-H). В вариантах выполнения

изобретения рак представляет собой рак желудка или рак гастроэзофагеального перехода.

[0085] В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий: (a) определение уровня экспрессии LAG-3 или уровня экспрессии LAG-3 и PD-L1 в образце опухоли; и (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью или положительной по LAG-3 положительной по PD-L1 опухолью. В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий: (a) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль; и (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, ингибитора пути PD-1 и одного или нескольких химиотерапевтических агентов. В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, при этом пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль до введения. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело к LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело к PD-1.

[0086] В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий: (a) определение уровня экспрессии LAG-3 или уровня экспрессии LAG-3 и PD-L1 в образце опухоли; и (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, ингибитора пути PD-1 и одного или нескольких химиотерапевтических агентов, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью или положительной по LAG-3/положительной по PD-L1 опухолью. В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий: (a) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3/положительную по PD-L1 злокачественную опухоль; и (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, ингибитора пути PD-1 и одного или нескольких химиотерапевтических агентов. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело к LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело к PD-1.

[0087] В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий: (a) определение уровня экспрессии LAG-3 или уровня экспрессии LAG-3 и PD-L1 в образце опухоли; и (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора

LAG-3, ингибитора пути PD-1 и одного или нескольких химиотерапевтических агентов, если опухоль является положительной по LAG-3 опухолью или положительной по LAG-3 положительной по PD-L1 опухолью. В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий: (а) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль; и (b) введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, ингибитора пути PD-1 и одного или нескольких химиотерапевтических агентов. В одном варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, ингибитора пути PD-1 и одного или нескольких химиотерапевтических агентов, в котором пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль до введения. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело к LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело к PD-1.

[0088] В другом варианте выполнения изобретение включает способ лечения злокачественной опухоли у пациента-человека, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе, при этом пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль до введения. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, ингибитора пути PD-1 и одного или нескольких химиотерапевтических агентов. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело к LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело к PD-1.

[0089] В определенных вариантах выполнения изобретение включает способ продления периода выживаемости без прогрессирования более чем на 12 месяцев у пациента-человека, страдающего злокачественной опухолью, включающий введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе, при этом пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль до введения и при этом пациент демонстрирует выживаемость без прогрессирования более 12 месяцев. В некоторых вариантах выполнения изобретения выживаемость пациента без прогрессирования может быть продлена после введения на более чем около 13 месяцев, около 14 месяцев, около 15 месяцев, около 16 месяцев, около 17 месяцев, около 18 месяцев, около 2 лет, около 3 лет, около 4 лет, около 5 лет, около 6 лет, около 7 лет, около 8 лет, около 9 лет или около 10 лет. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного

количества ингибитора LAG-3, ингибитора пути PD-1 и одного или нескольких химиотерапевтических агентов. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело к LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело к PD-1.

[0090] В еще других вариантах выполнения изобретение включает способ уменьшения размера опухоли по меньшей мере на 10% у пациента-человека, страдающего злокачественной опухолью, включающий введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе, в котором пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль (напр., рак желудка или рак гастроэзофагеального перехода) или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль до введения и где введение уменьшает размер опухоли на по меньшей мере около 10%, около 20%, около 30%, около 40%, около 50%, около 60%, около 70%, около 80%, около 90% или 100% по сравнению с размером опухоли до введения. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль до введения. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело к LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело к PD-1.

[0091] Изобретение может также включать способ предотвращения рецидива и/или индуцирования ремиссии у пациента, включающий введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе, при этом пациент идентифицируется как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль (напр., рак желудка или рак гастроэзофагеального перехода) или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль до введения. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ по изобретению включает (i) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль; (ii) введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, ингибитора пути PD-1 и одного или нескольких химиотерапевтических агентов. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело к LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело к PD-1.

[0092] В определенных вариантах выполнения изобретение включает способ повышения частоты объективного ответа до более чем 55% в популяции пациентов, где каждый пациент популяции пациентов имеет злокачественную опухоль, при лечении рака, включающий введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе, где каждый пациент идентифицирован как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль (напр., рак желудка или рак гастроэзофагеального перехода)

или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль до введения и где частота объективного ответа выше чем около 55%, около 60%, около 65%, около 70% или около 75%. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль до введения. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, ингибитора пути PD-1 и одного или нескольких химиотерапевтических агентов. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело к LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело к PD-1.

[0093] В определенных вариантах выполнения изобретение включает способ увеличения частоты контроля заболевания до более чем 55% в популяции пациентов, где каждый пациент популяции пациентов имеет злокачественную опухоль, при лечении рака, включающий введение пациенту иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе, где каждый пациент идентифицирован как имеющий положительную по LAG-3 злокачественную опухоль (напр., рак желудка или рак гастроэзофагеального перехода) или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль до введения и где частота контроля заболевания выше чем около 55%, около 60%, около 65%, около 70% или около 75%. В некоторых вариантах выполнения изобретения способ включает идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль до введения. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, ингибитора пути PD-1 и одного или нескольких химиотерапевтических агентов. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело к LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело к PD-1.

[0094] В других вариантах выполнения изобретения каждый пациент в способах испытывает (i) продленную выживаемость без прогрессирования в течение более 12 месяцев, (ii) уменьшение размера опухоли по меньшей мере на около 10%, около 20%, около 30%, около 40% или около 50% по сравнению с размером опухоли до введения или (iii) и то, и другое. В некоторых вариантах выполнения изобретения популяция пациентов может составлять по меньшей мере 100 пациентов, имеющих положительную по LAG-3 злокачественную опухоль (напр., рак желудка или рак гастроэзофагеального перехода) или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль. В некоторых вариантах выполнения изобретения популяция пациентов может составлять по меньшей мере около 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 или 1000 пациентов с положительной по LAG-3 злокачественной опухолью или положительной по LAG-3 положительной по PD-L1 злокачественной опухолью.

[0095] В дополнительных вариантах выполнения изобретение относится к способу выбора пациента-человека, подходящего для комбинированной терапии, включающему: (a) идентификацию пациента как имеющего положительную по LAG-3 злокачественную опухоль или положительную по LAG-3 положительную по PD-L1 злокачественную опухоль; и (b) указание поставщику медицинских услуг назначить пациенту иммунотерапию, описанную в настоящем документе. Способ может дополнительно включать введение иммунотерапии, описанной в настоящем документе. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, ингибитора пути PD-1 и одного или нескольких химиотерапевтических агентов. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело к LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело к PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения введение лечит злокачественную опухоль.

[0096] Способы по изобретению, как результат введения иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе, могут лечить злокачественную опухоль, уменьшать размер опухоли, ингибировать рост опухоли, устранять опухоль у пациента, предотвращать рецидив опухоли, индуцировать ремиссию у пациента или любую их комбинацию. В определенных вариантах выполнения изобретения введение иммунотерапии, описанной в настоящем документе, вызывает полный ответ. В других вариантах выполнения изобретения введение иммунотерапии, описанной в настоящем документе, вызывает частичный ответ. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммунотерапия включает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3, ингибитора пути PD-1 и одного или нескольких химиотерапевтических агентов. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой антитело к LAG-3, а ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело к PD-1.

[0097] В некоторых вариантах выполнения изобретения положительная по LAG-3 опухоль содержит по меньшей мере около 1%, по меньшей мере около 2%, по меньшей мере около 3%, по меньшей мере около 4%, по меньшей мере около 5%, по меньшей мере около 7%, по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90% или 100% клеток, экспрессирующих LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения клетки, экспрессирующие LAG-3, содержат инфильтрирующие опухоль лимфоциты.

[0098] В некоторых вариантах выполнения изобретения идентификация включает определение экспрессии LAG-3 в злокачественной опухоли.

[0099] В некоторых вариантах выполнения изобретения экспрессия LAG-3 определяется путем получения результатов анализа, способного определять экспрессию LAG-3.

[0100] В определенных вариантах выполнения изобретения любой из настоящих способов дополнительно включает определение экспрессии PD-L1 в образце опухоли.

[0101] В определенных вариантах выполнения изобретения любой из настоящих способов дополнительно включает идентификацию пациента как имеющего положительную по PD-L1 злокачественную опухоль до введения. В определенных вариантах выполнения изобретения любой из настоящих способов дополнительно включает определение экспрессии PD-L1 в злокачественной опухоли.

[0102] В определенных вариантах выполнения любого из настоящих способов пациент идентифицируется как имеющий положительную по PD-L1 злокачественную опухоль до введения. В некоторых вариантах выполнения любого из настоящих способов пациент идентифицируется как имеющий отрицательную по PD-L1 злокачественную опухоль до введения.

[0103] Способ определения экспрессии PD-L1 в образце опухоли, способы идентификации пациента как имеющего положительную по PD-L1 злокачественную опухоль и способы определения экспрессии PD-L1 в злокачественной опухоли были раскрыты в PCT/US2016/029878, раскрытие которой включено в настоящий документ посредством ссылки.

Измерение экспрессии LAG-3

[0104] В определенных вариантах выполнения изобретения идентификация пациента, подходящего для комбинированной терапии ингибитором LAG-3/ингибитором пути PD-1/химиотерапией для настоящих способов, включает измерение или оценку экспрессии LAG-3 в тестируемом образце ткани злокачественной опухоли, содержащем опухолевые клетки и инфильтрирующие опухоль воспалительные клетки. Фразы «опухоль, экспрессирующая LAG-3,» «экспрессирующая LAG-3 опухоль», «положительная по LAG-3 опухоль» и «положительная по экспрессии LAG-3 опухоль» используются взаимозаменяемо в настоящем документе и охватывают опухоли, содержащие экспрессирующие LAG-3 инфильтрирующие опухоль лимфоциты. Способы измерения или оценки экспрессии LAG-3 могут быть выполнены любыми применимыми способами.

[0105] Для того чтобы оценить экспрессию LAG-3 в одном варианте выполнения изобретения от пациента, нуждающегося в терапии, получают тестируемый образец ткани. В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани включает, но без ограничения, любой клинически значимый образец ткани, такой как биопсия опухоли, образец толстоигольной биопсии ткани, тонкоигольный аспират или образец жидкости организма, такой как кровь, плазма, сыворотка, лимфа, асцитная жидкость, кистозная жидкость или моча. В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани берется из первичной опухоли. В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани берется из метастаза. В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемые образцы ткани берутся у субъекта в несколько временных точек, например, до лечения, во время лечения и/или после лечения. В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемые образцы

ткани берутся из разных мест у субъекта, например, образец из первичной опухоли и образец из метастаза в отдаленном месте.

[0106] В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани представляет собой залитый парафином зафиксированный образец ткани. В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани представляет собой зафиксированный формалином залитый парафином образец ткани (FFPE). В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани представляет собой образец свежей ткани (напр., опухоли). В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани представляет собой замороженный образец ткани. В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани представляет собой свежемороженый (FF) образец ткани (напр., опухоли). В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани представляет собой клетку, выделенную из жидкости. В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани содержит циркулирующие опухолевые клетки (СТК). В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани содержит инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL). В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани содержит опухолевые клетки и инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL). В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани содержит циркулирующие лимфоциты. В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани представляет собой архивный образец ткани. В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани представляет собой архивный образец ткани с известным диагнозом, лечением и/или историей исходов. В некоторых вариантах выполнения изобретения образец представляет собой блок ткани. В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани представляет собой диспергированные клетки. В некоторых вариантах выполнения изобретения размер образца составляет от около 1 клетки до около 1×10^6 клеток или более. В некоторых вариантах выполнения изобретения размер образца составляет от около 1 клетки до около 1×10^5 клеток. В некоторых вариантах выполнения изобретения размер образца составляет от около 1 до около 10000 клеток. В некоторых вариантах выполнения изобретения размер образца составляет от около 1 клетки до около 1000 клеток. В некоторых вариантах выполнения изобретения размер образца составляет от около 1 клетки до около 100 клеток. В некоторых вариантах выполнения изобретения размер образца составляет от около 1 клетки до около 10 клеток. В некоторых вариантах выполнения изобретения размер образца составляет одну клетку.

[0107] В другом варианте выполнения изобретения оценка экспрессии LAG-3 может быть достигнута без получения тестируемого образца ткани. В некоторых вариантах выполнения изобретения выбор подходящего пациента включает (i) необязательно предоставление тестируемого образца ткани, полученного от пациента с раком ткани, где тестируемый образец ткани содержит опухолевые клетки и/или инфильтрирующие

опухоль воспалительные клетки; и (ii) оценку доли клеток в тестируемом образце ткани, экспрессирующих LAG-3 на поверхности клеток, на основании оценки того, что доля клеток в тестируемом образце ткани, экспрессирующих LAG-3 на поверхности клеток, выше заданного порогового уровня.

[0108] Однако в любом из способов, включающих измерение экспрессии LAG-3 в тестируемом образце ткани, следует понимать, что стадия, включающая предоставление тестируемого образца ткани, полученного от пациента, является необязательной стадией. То есть в определенных вариантах выполнения изобретения способ включает эту стадию, а в других вариантах выполнения изобретения эта стадия не входит в способ. Следует также понимать, что в определенных вариантах выполнения изобретения стадия «измерения» или «оценки» для идентификации или определения количества или доли клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3, выполняется способом анализа экспрессии LAG-3 с преобразованием, например путем выполнения анализа полимеразной цепной реакции с обратной транскриптазой (RT-PCR) или анализа ИНС. В определенных других вариантах выполнения изобретения не задействуется никакая преобразующая стадия, и экспрессия LAG-3 оценивается, например, путем просмотра отчета о результатах испытаний из лаборатории. В некоторых вариантах выполнения изобретения экспрессия LAG-3 оценивается путем анализа результатов иммуногистохимического анализа из лаборатории. В определенных вариантах выполнения изобретения стадии способов, вплоть до и включая оценку экспрессии LAG-3, обеспечивают промежуточный результат, который может быть предоставлен врачу или другому поставщику медицинских услуг для использования при выборе подходящего кандидата для комбинированной терапии ингибитором LAG-3, ингибитором пути PD-1 и одним или несколькими химиотерапевтическими агентами. В определенных вариантах выполнения изобретения стадии, обеспечивающие промежуточный результат, выполняются практикующим врачом или кем-либо, действующим под руководством практикующего врача. В других вариантах выполнения изобретения эти стадии выполняются независимой лабораторией или независимым лицом, таким как лаборант.

[0109] В определенных вариантах выполнения любого из настоящих способов доля клеток, экспрессирующих LAG-3, оценивается путем выполнения анализа для обнаружения присутствия РНК LAG-3. В дополнительных вариантах выполнения изобретения присутствие РНК LAG-3 обнаруживается с помощью RT-PCR, гибридизации *in situ* или защиты RNазой. В некоторых вариантах выполнения изобретения присутствие РНК LAG-3 обнаруживается с помощью анализа на основе RT-PCR. В некоторых вариантах оценка в анализе на основе RT-PCR включает оценку уровня экспрессии РНК LAG-3 в тестируемом образце ткани относительно заданного уровня.

[0110] В других вариантах выполнения изобретения доля клеток, экспрессирующих LAG-3, оценивается путем выполнения анализа для обнаружения присутствия

полипептида LAG-3. В дополнительных вариантах выполнения изобретения присутствие полипептида LAG-3 обнаруживают с помощью ИНС, иммуноферментного анализа (ELISA), визуализации *in vivo* или проточной цитометрии. В некоторых вариантах выполнения изобретения экспрессию LAG-3 анализируют с помощью ИНС. В других вариантах выполнения всех этих способов экспрессию LAG-3 на клеточной поверхности анализируют с использованием, *напр.*, ИНС или визуализации *in vivo*.

[0111] В других вариантах выполнения изобретения долю клеток, экспрессирующих LAG-3 в тестируемом образце ткани, оценивают способом проточной цитометрии. В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани, анализируемый способом проточной цитометрии, содержит инфильтрирующие опухоль иммунные клетки. В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой гематологическую злокачественность, а образец ткани, анализируемый способом проточной цитометрии, содержит клетки периферической крови. В некоторых вариантах выполнения изобретения проточная цитометрия представляет собой мультиплексный анализ. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка в проточной цитометрии включает обнаружение экспрессии маркеров, содержащих LAG-3, CD4, CD8, FOXP3 и любую их комбинацию. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка в проточной цитометрии включает оценку доли Т-клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка в проточной цитометрии включает оценку доли Т-клеток CD8⁺ в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка в проточной цитометрии включает оценку доли Т-клеток CD4⁺ в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка в проточной цитометрии включает оценку доли Т-клеток FOXP3⁺ в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3.

[0112] В определенных вариантах выполнения любого из настоящих способов долю клеток, экспрессирующих LAG-3 в тестируемом образце ткани, оценивают путем выполнения анализа для обнаружения присутствия полипептида LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения присутствие полипептида LAG-3 обнаруживается с помощью иммуногистохимического анализа. В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани представляет собой биопсию опухоли. В некоторых вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани представляет собой зафиксированный формалином залитый парафином (FFPE) образец.

[0113] В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ представляет собой моноплексный анализ. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ представляет собой мультиплексный анализ. В некоторых вариантах выполнения изобретения мультиплексный иммуногистохимический анализ способен обнаруживать присутствие CD4, CD8, FOXP3 или любой их комбинации.

[0114] В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ включает контактирование образца опухоли с моноклональным антителом 17B4 мыши к IgG1 LAG-3 человека. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ включает контактирование образца опухоли с антителом к LAG-3, содержащим вариabельные области тяжелой и легкой цепи, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO:3 и 5 соответственно. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ включает контактирование образца опухоли с моноклональным антителом SP346 кролика к IgG LAG-3 человека. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ включает контактирование образца опухоли с моноклональным антителом 11E3 (Novusbio), 874501 (Novusbio) или EPR4392(2) (Abcam) к LAG-3 человека.

[0115] В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ оценивают при слабом увеличении. В некоторых вариантах выполнения изобретения слабое увеличение составляет около 20X. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ оценивают при большом увеличении. В некоторых вариантах выполнения изобретения большое увеличение составляет около 40X.

[0116] В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ оценивается с помощью программного обеспечения для анализа изображений. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ оценивается с помощью визуального иммунного балла патологоанатома. В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ оценивается вручную.

[0117] В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли иммунных клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли Т-клеток в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли Т-клеток CD8⁺ в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли Т-клеток CD4⁺ в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли Т-клеток FOXP3⁺ в тестируемом образце ткани, которые экспрессируют LAG-3.

[0118] Локализация полипептида LAG-3 включает частичную мембранную/цитоплазматическую локализацию, точечную локализацию и полную

мембранную/цитоплазматическую локализацию. В некоторых вариантах выполнения изобретения подсчитываются клетки с частичной мембранной/цитоплазматической локализацией LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения подсчитываются клетки с точечной локализацией LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения подсчитываются клетки с полной мембранной/цитоплазматической локализацией LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения подсчитываются клетки с любым паттерном локализации LAG-3.

[0119] В некоторых вариантах выполнения изобретения иммуногистохимический анализ представляет собой мультиплексный анализ, который дополнительно включает обнаружение экспрессии МНС Класса II опухолевыми клетками. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли клеток в тестируемом образце ткани, которая экспрессирует МНС Класса II. В некоторых вариантах выполнения изобретения оценка иммуногистохимического анализа включает оценку доли неиммунных клеток в тестируемом образце ткани, которая экспрессирует МНС Класса II.

[0120] Методики визуализации стали важными инструментами в исследованиях и лечении рака. Последние разработки в области молекулярных систем визуализации, включая позитронно-эмиссионную томографию (PET), однофотонную эмиссионную компьютерную томографию (SPECT), флуоресцентную отражательную визуализацию (FRI), флуоресцентно-опосредованную томографию (FMT), биoluminesцентную визуализацию (BLI), лазерно-сканирующую конфокальную микроскопию (LSCM) и многофотонную микроскопию (MPM), вероятно, предвещают еще более широкое использование этих методик в исследовании рака. Некоторые из этих систем молекулярной визуализации позволяют клиницистам не только видеть, где находится опухоль в организме, но и визуализировать экспрессию и активность определенных молекул, клеток и биологических процессов, которые влияют на поведение опухоли и/или реакцию на терапевтические препараты (Condeelis and Weissleder, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2(12):a003848 (2010)). Специфичность антител в комбинации с чувствительностью и разрешающей способностью PET делает иммуноPET-визуализацию особенно привлекательной для мониторинга и анализа экспрессии антигенов в образцах тканей (McCabe and Wu, *Cancer Biother. Radiopharm.* 25(3):253-61 (2010); Olafsen *et al.*, *Protein Eng. Des. Sel.* 23(4):243-9 (2010)). В определенных вариантах выполнения любого из способов, экспрессия LAG-3 анализируется с помощью визуализации иммуноPET. В определенных вариантах выполнения любого из настоящих способов долю клеток в тестируемом образце ткани, экспрессирующих LAG-3, оценивают путем выполнения анализа для определения присутствия полипептида LAG-3 на поверхности клеток в тестируемом образце ткани. В определенных вариантах выполнения изобретения тестируемый образец ткани представляет собой FFPE образец ткани. В других вариантах выполнения изобретения присутствие полипептида LAG-3 определяется способом анализа ИНС. В других вариантах выполнения изобретения

анализ ИНС выполняется с использованием автоматизированного процесса. В определенных вариантах выполнения изобретения анализ ИНС выполняется с использованием mAb к LAG-3 для связывания с полипептидом LAG-3.

Анализ Экспрессии LAG-3 с помощью Автоматизированной ИНС

[0121] В одном варианте выполнения настоящих способов для анализа экспрессии LAG-3 в FFPE образцах ткани используется автоматизированный способ ИНС. Это раскрытие относится к способам обнаружения присутствия антигена LAG-3 человека в тестируемом образце ткани или количественного определения уровня антигена LAG-3 человека или доли клеток в образце, которые экспрессируют антиген, включающим контактирование тестируемого образца и отрицательного контрольного образца с mAb, которое специфически связывается с LAG-3 человека, в условиях, допускающих образование комплекса между антителом или его частью и LAG-3 человека. В определенных вариантах выполнения изобретения тестируемые и контрольные образцы тканей представляют собой FFPE образцы. Затем обнаруживается образование комплекса, причем разница в комплексообразовании между тестируемым образцом и отрицательным контрольным образцом свидетельствует о наличии в образце антигена LAG-3 человека. Для количественной оценки экспрессии LAG-3 используются различные способы.

[0122] В конкретном варианте выполнения изобретения автоматизированный способ ИНС включает: (a) депарафинизацию и регидратацию смонтированных срезов ткани в автостейнере; (b) извлечение антигена в автостейнере; (c) установку реагентов в автостейнер; и (d) запуск автостейнера для включения стадий нейтрализации эндогенной пероксидазы в образце ткани; блокирование неспецифических сайтов связывания белков на предметных стеклах; инкубацию предметных стекол с первичным Ab; инкубацию с постпраймным блокирующим агентом; инкубацию с постпраймным агентом для обнаружения антитела, таким как другое антитело, которое может или не может быть конъюгировано с детектирующим ферментом; инкубацию с полимерно-ферментным детектирующим реагентом; добавление хромогенного субстрата и проявление; и контркрашивание гематоксилином. В некоторых вариантах выполнения изобретения извлечение антигена включает использование любого устройства для извлечения антигена на основе тепла.

[0123] В некоторых вариантах выполнения изобретения для оценки экспрессии LAG-3 в образцах опухолевой ткани патолог исследует количество опухолевых клеток LAG-3+ в каждом поле под микроскопом и мысленно оценивает процент клеток, которые являются положительными, а затем усредняет их, чтобы прийти к конечному проценту. Различные интенсивности окрашивания определяются как 0/отрицательное, 1+/слабое, 2+/умеренное и 3+/сильное. Как правило, процентные значения сначала присваиваются бакетам 0 и 3+, а затем рассматриваются промежуточные интенсивности 1+ и 2+. Для высоко гетерогенных тканей образец делится на зоны, и каждая зона оценивается

отдельно, а затем объединяется в единый набор процентных значений. Процентное соотношение отрицательных и положительных клеток для различных интенсивностей окрашивания определяется из каждой области, и для каждой зоны дается медианное значение. Конечное процентное значение дается ткани для каждой категории интенсивности окрашивания: отрицательное, 1+, 2+ и 3+. Сумма всех интенсивностей окрашивания должна быть 100%.

[0124] В некоторых вариантах выполнения изобретения окрашивание также оценивают в инфильтрирующих опухоль воспалительных клетках, таких как макрофаги и лимфоциты. Макрофаги и лимфоциты оцениваются на окрашивание LAG-3 и только регистрируются для всех образцов как положительные или отрицательные для каждой категории клеток. Окрашивание также характеризуется в соответствии с обозначением внешней/внутренней опухолевой иммунной клетки. «Внутренняя» означает, что иммунная клетка находится внутри опухолевой ткани и/или на границах области опухоли, не будучи физически интеркалированной между опухолевыми клетками. «Внешняя» означает, что нет физической связи с опухолью, поскольку иммунные клетки находятся на периферии, связанной с соединительной или любой связанной с ней соседней тканью.

[0125] В определенных вариантах выполнения этих способов оценки образцы оцениваются двумя или более патологами, работающими независимо друг от друга, и результаты впоследствии консолидируются. В определенных других вариантах выполнения изобретения идентификация положительных и отрицательных клеток оценивается с помощью соответствующего программного обеспечения.

[0126] В качестве более количественной меры данных ИНС используется гистобалл (H-score). Гистобалл рассчитывается следующим образом:

$$\text{Гистобалл} = [(\% \text{ опухоль} \times 1 \text{ (низкая интенсивность)}) + (\% \text{ опухоль} \times 2 \text{ (средняя интенсивность)}) + (\% \text{ опухоль} \times 3 \text{ (высокая интенсивность)})]$$

[0127] Для того чтобы определить гистобалл, патолог оценивает процент окрашенных клеток в каждой категории интенсивности в образце. Поскольку экспрессия большинства биомаркеров гетерогенна, гистобалл является более точным представлением общей экспрессии. Конечный диапазон гистобаллов составляет от 0 (минимальный балл, отсутствие экспрессии) до 300 (максимальный балл, сильная и инклюзивная экспрессия).

3. Ингибиторы LAG-3

[0128] В одном аспекте изобретение описывает способы применения ингибитора LAG-3 в лечении злокачественных опухолей. Как используется в настоящем документе, ингибитор LAG-3 включает, но без ограничения, связывающие LAG-3 агенты и растворимые полипептиды LAG-3. Связывающие LAG-3 агенты включают антитела, которые специфически связываются с LAG-3.

[0129] В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 является связывающим LAG-3 агентом, например, антителом к LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой растворимый полипептид LAG-3, например, слитый полипептид LAG-3-Fc, способный связываться с МНС Класса II.

[0130] Антитела к LAG-3 человека (или домены VH/VL, полученные из них), пригодные для использования в изобретении, могут быть получены с использованием способов, хорошо известных в данной области техники. В качестве альтернативы можно использовать антитела к LAG-3, известные в данной области техники.

[0131] В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 представляет собой BMS-986016, содержащее тяжелые и легкие цепи, содержащие последовательности, показанные в SEQ ID NO:1 и 2 соответственно, или антигенсвязывающие фрагменты и их варианты, как описано в PCT/US13/48999, раскрытие которой включено в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело BMS-986016 не содержит концевой лизин аминокислотной тяжелой цепи по SEQ ID NO:1.

[0132] В других вариантах выполнения изобретения антитело имеет CDR тяжелой и легкой цепи или вариабельные области BMS-986016. Соответственно, в одном варианте выполнения изобретения антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VH BMS-986016, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VL BMS-986016, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5. В другом варианте выполнения изобретения антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO:7, 8 и 9 соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO:10, 11 и 12 соответственно. В другом варианте выполнения изобретения антитело содержит области VH и/или VL, содержащие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO:3 и/или SEQ ID NO:5 соответственно. В другом варианте выполнения изобретения антитело содержит вариабельные области тяжелой цепи (VH) и/или легкой цепи (VL), кодируемые последовательностями нуклеиновых кислот, указанными в SEQ ID NO:4 и/или SEQ ID NO:6 соответственно. В другом варианте выполнения изобретения антитело конкурирует за связывание и/или связывается с тем же эпитопом на LAG-3, что и вышеупомянутые антитела. В другом варианте выполнения изобретения антитело связывает эпитоп LAG-3 человека, содержащий аминокислотную последовательность PGHPLAPG (SEQ ID NO:14). В другом варианте выполнения изобретения антитело связывает эпитоп LAG-3 человека, содержащий аминокислотную последовательность HPAAPSSW (SEQ ID NO:15) или PAAPSSWG (SEQ ID NO:16).

[0133] В другом варианте выполнения изобретения антитело имеет по меньшей мере около 90% идентичности аминокислотной последовательности вариабельной области с

вышеупомянутыми антителами (напр., по меньшей мере около 90%, 95% или 99% идентичности вариабельной области с SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:5).

[0134] В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурируют с BMS-986016 (релатлимаб) за связывание с LAG-3 человека. В других вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 или его антигенсвязывающая часть связывается с тем же эпитопом, что и BMS-986016 (релатлимаб). В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурирует с TSR-033 за связывание с LAG-3 человека. В других вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 или его антигенсвязывающая часть связываются с тем же эпитопом, что и TSR-033. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурирует с TSR-075 за связывание с LAG-3 человека. В других вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 или его антигенсвязывающая часть связываются с тем же эпитопом, что и TSR-075. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 представляет собой химерное антитело, гуманизированное антитело, человеческое моноклональное антитело или их антигенсвязывающую часть. В других вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 или его антигенсвязывающая часть содержит константную область тяжелой цепи изотипа IgG1 человека или изотипа IgG4 человека. В конкретных вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его антигенсвязывающая часть представляет собой BMS-986016 (релатлимаб). В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 или его антигенсвязывающая часть представляет собой биоаналог BMS-986016 (релатлимаб). В конкретных вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его антигенсвязывающая часть представляет собой TSR-033. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 или его антигенсвязывающая часть представляет собой биоаналог TSR-033. В конкретных вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его антигенсвязывающая часть представляет собой TSR-075. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 или его антигенсвязывающая часть представляет собой биоаналог TSR-075.

[0135] В некоторых вариантах выполнения изобретения в терапевтических способах по изобретению могут использоваться антитела к LAG-3, известные в данной области техники. Например, может быть использовано антитело к LAG-3 человека, описанное в US2011/0150892 A1, которое включено в настоящий документ посредством ссылки, и относится к моноклональному антителу 25F7 (также известному как «25F7» и «LAG-3.1»). Другие антитела к LAG-3, известные в данной области техники, которые могут быть использованы, включают IMP731 (H5L7BW), описанное в US 2011/007023, MK-4280 (28G-10), описанное в WO2016028672, REGN3767, описанное в Journal for ImmunoTherapy of Cancer, (2016) Vol. 4, Supp. Supplement 1 Abstract Number: P195, BAP050, описанное в WO2017/019894, IMP-701 (LAG-525), aLAG3(0414), aLAG3(0416), Sym022, TSR-033, TSR-075, XmAb22841, MGD013, BI754111, FS118, P 13B02-30, AVA-

017 и GSK2831781. Эти и другие антитела к LAG-3, пригодные для заявленного изобретения, могут быть найдены, например, в US 10,188,730, WO2016/028672, WO2017/106129, WO2017/062888, WO2009/044273, WO2018/069500, WO2016/126858, WO2014/179664, WO2016/200782, WO2015/200119, WO2017/019846, WO2017/198741, WO2017/220555, WO2017/220569, WO2018/071500, WO2017/015560, WO2017/025498, WO2017/087589, WO2017/087901, WO2018/083087, WO2017/149143, WO2017/219995, US2017/0260271, WO2017/086367, WO2017/086419, WO2018/034227, WO18/185046, WO18/185043, WO2018/217940, WO19/011306, WO2018/208868 и WO2014/140180. В одном варианте выполнения изобретения ингибитор LAG-3 представляет собой IMP321 (эфтилагимод альфа). Содержание каждой из этих ссылок включено в настоящий документ посредством ссылки в их полном объеме.

[0136] Также могут быть использованы антитела, конкурирующие с любыми из упомянутых выше антител для связывания с LAG-3, известных в данной области техники.

[0137] В определенных вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 используется для определения экспрессии LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 выбирают за его способность связываться с LAG-3 в зафиксированных формалином залитых парафином (FFPE) образцах тканей. В дополнительных вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 способно связываться с LAG-3 в замороженных тканях. В дополнительных вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 способно различать мембраносвязанные, цитоплазматические и/или растворимые формы LAG-3.

[0138] В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3, пригодное для анализа, обнаружения и/или количественной оценки экспрессии LAG-3 в соответствии с описанными в настоящем документе способами, представляет собой моноклональное антитело 17B4 мыши IgG1 к LAG-3 человека или его антигенсвязывающий фрагмент. См., *напр.*, J. Matsuzaki, *et al.*; *PNAS* 107, 7875 (2010).

4. Ингибиторы пути PD-1

[0139] В одном аспекте изобретение описывает способы применения ингибитора PD-1 в лечении злокачественных опухолей. Как используется в настоящем документе, «ингибитор пути PD-1» включает, но без ограничения, связывающие PD-1 агенты, связывающий PD-L1 агент и связывающие PD-L2 агенты. Связывающие PD-1 агенты включают антитела, которые специфически связываются с PD-1. Связывающие PD-L1 и PD-L2 агенты включают антитела, которые специфически связываются с PD-L1 и/или PD-L2, а также растворимые полипептиды PD-1, которые связываются с PD-L1 и/или PD-L2.

[0140] В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор пути PD-1 является связывающим PD-1 агентом, например, антителом к PD-1. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор пути PD-1 является связывающим PD-L1 агентом,

например, антителом к PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения ингибитор пути PD-1 является связывающим PD-L2 агентом, например, антителом к PD-L2. В дополнительных вариантах выполнения изобретения связывающим PD-L1 агентом является растворимый полипептид PD-1, например, слитый полипептид PD-1-Fc, способный связываться с PD-L1. В дополнительных вариантах выполнения изобретения связывающим PD-L2 агентом является растворимый полипептид PD-1, например, слитый полипептид PD-1-Fc, способный связываться с PD-L2.

[0141] Антитела к PD-1 человека (или домены VH и/или VL, полученные из них), пригодные для использования в изобретении, могут быть получены с использованием способов, хорошо известных в данной области техники. Альтернативно можно использовать антитела к PD-1, известные в данной области техники. Например, могут быть использованы моноклональные антитела 5C4 (именуемые в настоящем документе Ниволумабом или BMS-936558), 17D8, 2D3, 4H1, 4A11, 7D3 и 5F4, описанные в WO 2006/121168, включенные в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме. Другие известные PD-1 антитела включают ламбролизумаб (МК-3475), описанный в WO 2008/156712, и AMP-514, описанный в WO 2012/145493, которые включены в настоящий документ посредством ссылки. Также известные антитела PD-1 и другие ингибиторы PD-1 включают описанные в, например, WO 2009/014708, WO 03/099196, WO 2009/114335 и WO 2011/161699, которые включены в настоящий документ посредством ссылки. В одном варианте выполнения изобретения антитело к PD-1 представляет собой REGN2810. В одном варианте выполнения изобретения антитело к PD-1 представляет собой PDR001. Другое известное антитело к PD-1 представляет собой пидилизумаб (СТ-011).

[0142] В одном варианте выполнения изобретения антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб. Ниволумаб (также известный как «OPDIVO®»; ранее обозначавшийся 5C4, BMS-936558, MDX-1106 или ONO-4538) представляет собой полностью человеческое IgG4 (S228P) PD-1 ингибиторное антитело контрольных точек иммунного ответа, которое избирательно препятствует взаимодействию с лигандами PD-1 (PD-L1 и PD-L2), блокируя тем самым даун-регуляцию функций противоопухолевых Т-клеток (Патент США No. 8,008,449; Wang *et al.*, *Cancer Immunol Res.* 2(9):846-56 (2014)). В другом варианте выполнения изобретения антитело к PD-1 или его фрагмент перекрестно конкурируют с ниволумабом. В других вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его фрагмент связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 имеет те же CDR, что и ниволумаб.

[0143] В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурирует с ниволумабом за связывание с PD-1 человека. В других вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его антигенсвязывающая часть связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 представляет собой химерное антитело, гуманизированное антитело, человеческое моноклональное

антитело или его антигенсвязывающую часть. В других вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его антигенсвязывающая часть содержит константную область тяжелой цепи изотипа IgG1 человека или изотипа IgG4 человека. В конкретных вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его антигенсвязывающая часть представляет собой ниволумаб или пембролизумаб. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его антигенсвязывающая часть являются биоаналогом ниволумаба. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его антигенсвязывающая часть являются биоаналогом пембролизумаба.

[0144] В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 содержит тяжелую и легкую цепи, содержащие последовательности, показанные в SEQ ID NO:17 и 18 соответственно, или их антигенсвязывающие фрагменты и варианты.

[0145] В других вариантах выполнения изобретения антитело имеет CDR или переменные области тяжелой и легкой цепи ниволумаба. Соответственно, в одном варианте выполнения изобретения антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 VH ниволумаба, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 VL ниволумаба, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:21. В другом варианте выполнения изобретения антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO:23, 24 и 25 соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO:26, 27 и 28 соответственно. В другом варианте выполнения изобретения антитело содержит области VH и/или VL, содержащие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO:19 и/или SEQ ID NO:21 соответственно. В другом варианте выполнения изобретения антитело содержит переменные области тяжелой цепи (VH) и/или легкой цепи (VL), кодируемые последовательностями нуклеиновых кислот, указанными в SEQ ID NO:20 и/или SEQ ID NO:22 соответственно. В другом варианте выполнения изобретения антитело конкурирует за связывание и/или связывается с тем же эпитопом на PD-1, что и вышеупомянутые антитела. В другом варианте выполнения изобретения антитело имеет по меньшей мере около 90% идентичности аминокислотной последовательности переменной области с вышеупомянутыми антителами (напр., по меньшей мере около 90%, 95% или 99% идентичности переменной области с SEQ ID NO:19 или SEQ ID NO:21).

[0146] Моноклональные антитела человека (HuMAb), которые специфически связываются с PD-1 с высокой аффинностью, были раскрыты в Патентах США No. 8,008,449 и 8,779,105, которые включены в настоящий документ посредством ссылки. Другие mAb к PD-1 были описаны, например, в Патентах США No. 6,808,710, 7,488,802, 8,168,757 и 8,354,509, и в Публикации PCT No. WO 2012/145493, которые включены в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах выполнения изобретения было продемонстрировано, что антитело к PD-1 проявляет одну или несколько из следующих характеристик: (а) связывается с PD-1 человека с K_D 1×10^{-7} М или менее, как определено поверхностным плазмонным резонансом с использованием

биосенсорной системы Biacore; (b) существенно не связывается с человеческим CD28, CTLA-4 или ICOS; (c) увеличивает пролиферацию Т-клеток в анализе Реакции Смешанных Лимфоцитов (MLR); (d) увеличивает продукцию интерферона- γ в анализе MLR; (e) увеличивает секрецию IL-2 в анализе MLR; (f) связывается с PD-1 человека и PD-1 яванского макака; (g) ингибирует связывание PD-L1 и/или PD-L2 с PD-1; (h) стимулирует антигенспецифические реакции памяти; (i) стимулирует реакции антител; и (j) ингибирует рост опухолевых клеток *in vivo*. Антитела к PD-1, пригодные для настоящего изобретения, включают mAb, которые специфически связываются с PD-1 человека и проявляют по меньшей мере одну, по меньшей мере две, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре или по меньшей мере пять из предыдущих характеристик. Антитела к PD-1, проявляющие одну или несколько из этих характеристик, были раскрыты в Патентах США № 8,008,449, 8,779,105, 6,808,710, 7,488,802, 8,168,757 и 8,354,509, и в Публикации РСТ No. WO 2012/145493, которые включены в настоящий документ посредством ссылки. В другом варианте выполнения изобретения антитело к PD-1 представляет собой пембролизумаб. Пембролизумаб представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG4 (S228P), направленное к клеточному поверхностному рецептору PD-1 (запрограммированной гибели-1 или запрограммированной клеточной гибели-1) человека. Пембролизумаб описан, например, в Патентах США No. 8,354,509 и 8,900,587, которые включены в настоящий документ посредством ссылки.

[0147] В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его фрагмент перекрестно конкурирует с пембролизумабом. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его фрагмент связывается с тем же эпитопом, что и пембролизумаб. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 имеет те же CDR, что и пембролизумаб. В другом варианте выполнения изобретения антитело к PD-1 представляет собой пембролизумаб. Пембролизумаб (также известный как «KEYTRUDA®», ламбролизумаб и МК-3475) представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG4, направленное к клеточному поверхностному рецептору PD-1 (запрограммированной гибели-1 или запрограммированной клеточной гибели-1) человека. Пембролизумаб описан, например, в Патенте США No. 8,354,509 и 8,900,587, которые включены в настоящий документ посредством ссылки; *см. также* <http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=695789> (последнее обращение: 14 декабря 2014).

[0148] В других вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его фрагмент перекрестно конкурирует с MEDI0608. В еще других вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его фрагмент связывается с тем же эпитопом, что и MEDI0608. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 имеет те же CDR, что и MEDI0608. В других вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 представляет собой MEDI0608 (ранее AMP-514), которое является моноклональным антителом. MEDI0608 описано, например, в Пат. США No. 8,609,089B2, который включен в

настоящий документ посредством ссылки или по <http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=756047> (последнее обращение 14 декабря 2014).

[0149] В определенных вариантах выполнения изобретения первое антитело представляет собой антагонист анти-PD-1. Одним из примеров антагониста анти-PD-1 является AMP-224, которое представляет собой слитый белок B7-DC Fc. AMP-224 обсуждается в Публ. США No. 2013/0017199, которая включена в настоящий документ посредством ссылки или по <http://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-drug?cdrid=700595> (последнее обращение 8 июля 2015 г.).

[0150] В других вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его фрагмент перекрестно конкурирует с BGB-A317. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его фрагмент связывает тот же эпитоп, что и BGB-A317. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 имеет те же CDR, что и BGB-A317. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 представляет собой BGB-A317, которое представляет собой гуманизированное моноклональное антитело. BGB-A317 описано в Публ. США No. 2015/0079109, которая включена в настоящий документ посредством ссылки.

[0151] В определенных вариантах выполнения изобретения антитело представляет собой пидилизумаб (CT-011), который, как сообщалось ранее, связывается с PD-1, но который, как полагают, связывается с другой мишенью. Пидилизумаб описан в Пат. США No. 8,686,119 B2 или WO 2013/014668 A1, которые включены в настоящий документ посредством ссылки.

[0152] В некоторых вариантах выполнения изобретения антитела, которые перекрестно конкурируют за связывание с PD-1 человека или связываются с той же эпитопной областью PD-1 человека, что и ниволумаб, являются mAb. Для введения субъектам-людям эти перекрестно конкурирующие антитела могут быть химерными антителами, или гуманизированными, или человеческими антителами. Такие химерные, гуманизированные или человеческие mAb могут быть получены и выделены способами, хорошо известными в данной области техники.

[0153] Другие моноклональные антитела к PD-1 были описаны, например, в Патенте США No. 6,808,710, 7,488,802, 8,168,757 и 8,354,509, Публикации США No. 2016/0272708 и Публикациях PCT No. WO 2012/145493, WO 2008/156712, WO 2015/112900, WO 2012/145493, WO 2015/112800, WO 2014/206107, WO 2015/35606, WO 2015/085847, WO 2014/179664, WO 2017/020291, WO 2017/020858, WO 2016/197367, WO 2017/024515, WO 2017/025051, WO 2017/123557, WO 2016/106159, WO 2014/194302, WO 2017/040790, WO 2017/133540, WO 2017/132827, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/106061, WO 2017/19846, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825, и WO 2017/133540, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[0154] В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 выбирается из группы, состоящей из ниволумаба (также известного как OPDIVO®, 5C4, BMS-936558, MDX-1106 и ONO-4538), пембролизумаба (Merck; также известного как KEYTRUDA®, ламбролизумаб, и MK-3475; см. WO2008/156712), PDR001 (Novartis; см. WO 2015/112900), MEDI-0680 (AstraZeneca; также известного как AMP-514; см. WO 2012/145493), цемиплимаба (Regeneron; также известного как REGN-2810; см. WO 2015/112800), JS001 (TTAIZHOU JUNSHI PHARMA; см. Si-Yang Liu *et al.*, *J. Hematol. Oncol.* 10:136 (2017)), BGB-A317 (Beigene; см. WO 2015/35606 и US 2015/0079109), INCSHR1210 (Jiangsu Hengrui Medicine; также известного как SHR-1210; см. WO 2015/085847; Si-Yang Liu *et al.*, *J. Hematol. Oncol.* 10:136 (2017)), TSR-042 (Tesaro Biopharmaceutical; также известного как ANB011; см. WO2014/179664), GLS-010 (Wuxi/Harbin Gloria Pharmaceuticals; также известного как WBP3055; см. Si-Yang Liu *et al.*, *J. Hematol. Oncol.* 10:136 (2017)), AM-0001 (Armo), STI-1110 (Sorrento Therapeutics; см. WO 2014/194302), AGEN2034 (Agenus; см. WO 2017/040790), MGA012 (Macrogenics, см. WO 2017/19846) и IBI308 (Innovent; см. WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825 и WO 2017/133540). Содержание каждой из этих ссылок включено в настоящий документ посредством ссылки в их полном объеме.

[0155] Антитела к PD-1, пригодные для композиций раскрытого изобретения, также включают антигенсвязывающие части вышеуказанных антител. Было наглядно продемонстрировано, что антигенсвязывающая функция антитела может быть выполнена фрагментами полноразмерного антитела. Примеры связывающих фрагментов, охватываемых термином «антигенсвязывающая часть» антитела, включают (i) фрагмент Fab, одновалентный фрагмент, состоящий из доменов V_L , V_H , C_L и C_{H1} ; (ii) фрагмент $F(ab')_2$, двухвалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, соединенных дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) фрагмент Fd, состоящий из доменов V_H и C_{H1} ; и (iv) фрагмент Fv, состоящий из доменов V_L и V_H одного плеча антитела.

[0156] Антитела к PD-1, используемые в раскрытых способах, также включают изолированные антитела, которые специфически связываются с PD-1 человека и перекрестно конкурируют за связывание PD-1 человека с антителами к PD-1, раскрытыми в настоящем документе, напр., ниволумабом (см., напр., Патент США No. 8,008,449 и 8,779,105; WO 2013/173223, которые включены в настоящий документ посредством ссылки). В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 связывает тот же эпитоп, что и любое из антител к PD-1, описанных в настоящем документе, напр., ниволумаб. Способность антител к перекрестной конкуренции за связывание с антигеном указывает на то, что эти моноклональные антитела связываются с одной и той же эпитопной областью антигена и стерически препятствуют связыванию других перекрестно конкурирующих антител с этой конкретной эпитопной областью. Ожидается, что эти перекрестно конкурирующие антитела будут обладать функциональными свойствами, очень похожими на свойства референтного антитела,

напр., ниволумаба, в силу их связывания с той же эпитопной областью PD-1. Перекрестно конкурирующие антитела могут быть легко идентифицированы на основе их способности перекрестно конкурировать с ниволумабом в стандартных анализах связывания PD-1, таких как анализ Biacore, анализ ELISA или проточная цитометрия (см., напр., WO 2013/173223, который включен в настоящий документ посредством ссылки).

[0157] Антитела к PD-1, пригодные для использования в раскрытых способах, представляют собой антитела, которые связываются с PD-1 с высокой специфичностью и аффинностью, блокируют связывание PD-L1 и/или PD-L2 и ингибируют иммуносупрессивный эффект сигнального пути PD-1. В любой из композиций или способов, раскрытых в настоящем документе, «антитело» к PD-1 включает антигенсвязывающую часть или фрагмент, который связывается с рецептором PD-1 и проявляет функциональные свойства, аналогичные функциональным свойствам целых антител, ингибируя связывание лиганда и повышая ап-регуляцию иммунной системы. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурируют с ниволумабом за связывание с PD-1 человека. В других вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его антигенсвязывающая часть представляет собой химерное, гуманизированное или человеческое моноклональное антитело или его часть. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело представляет собой гуманизированное антитело. В других вариантах выполнения изобретения антитело представляет собой человеческое антитело. Можно использовать антитела изотипа IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

[0158] В определенных вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его антигенсвязывающая часть содержит константную область тяжелой цепи, которая имеет изотип IgG1 или IgG4 человека. В определенных других вариантах выполнения изобретения последовательность константной области тяжелой цепи IgG4 антитела к PD-1 или его антигенсвязывающей части содержит мутацию S228P, которая заменяет остаток серина в шарнирной области остатком пролина, обычно находящимся в соответствующем положении в антителах изотипа IgG1. Эта мутация, присутствующая в ниволумабе, предотвращает обмен плеча Fab с эндогенными антителами IgG4, сохраняя при этом низкую аффинность к активации рецепторов Fc, ассоциированных с антителами IgG4 дикого типа (Wang *et al.*, 2014 *Cancer Immunol Res.* 2(9):846-56). В еще других вариантах выполнения изобретения антитело содержит константную область легкой цепи, которая является константной областью каппа или лямбда человека. В других вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 или его антигенсвязывающая часть представляет собой mAb или его антигенсвязывающую часть. В определенных вариантах выполнения любого из описанных в настоящем документе терапевтических способов, включающих введение антитела к PD-1, антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб. В других вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 представляет собой пембролизумаб. В других вариантах выполнения

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

[0159] В вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 является биспецифическим антителом. В вариантах выполнения изобретения антитело к PD-1 представляет собой биспецифическое антитело, которое связывает как PD-1, так и LAG-3.

5. Антитела к PD-L1

[0160] В определенных вариантах выполнения изобретения настоящая заявка охватывает применение антитела к PD-L1 в качестве ингибитора пути PD-1. В одном варианте выполнения изобретения антитело к PD-L1 ингибирует связывание рецептора PD-L1, то есть PD-1 с его лигандом PD-L1.

[0161] Антитела к PD-L1 человека (или домены VH и/или VL, полученные из них), пригодные для применения в изобретении, могут быть получены с использованием способов, хорошо известных в данной области техники. В качестве альтернативы можно использовать антитела к PD-L1, известные в данной области техники. Например, можно использовать антитела к PD-L1 человека, раскрытые в Пат. США No. 7,943,743. Такие антитела к PD-L1 включают 3G10, 12A4 (также именуемое как BMS-936559), 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7 и 13G4. **[0110]** В определенных вариантах выполнения изобретения антитело к PD-L1 представляет собой атезолизумаб (Tecentriq или RG7446) (см., напр., Herbst et al. (2013) J Clin Oncol 31(suppl):3000. Abstract; U.S. Patent No. 8,217,149), дурвалумаб (Imfinzi или MEDI4736) (Khleif (2013) In: Proceedings from the European Cancer Congress 2013; September 27-October 1, 2013; Amsterdam, The Netherlands. Abstract 802), avelumab (Bavencio). Другие антитела к PD-L1, известные в данной области техники, которые могут быть использованы, включают описанные, например, в Пат. США No. 7,635,757 и 8,217,149, Публикации США No. 2009/0317368 и Публикации PCT No. WO 2011/066389 и WO 2012/145493, которые включены в настоящий документ посредством ссылки. Также могут быть использованы антитела, конкурирующие с любыми из этих антител или ингибиторов для связывания с PD-L1, которые известны в данной области техники. Примеры антител к PD-L1, пригодных для способов настоящего раскрытия, включают антитела, раскрытые в Патенте США No. 9,580,507, который включен в настоящий документ посредством ссылки. Было продемонстрировано, что моноклональные антитела к PD-L1 человека, раскрытые в Патенте США No. 9,580,507, проявляют одну или несколько из следующих характеристик: (a) связываются с PD-L1 человека с KD 1×10^{-7} М или менее, как определено поверхностным плазмонным резонансом с использованием биосенсорной системы Biacore; (b) увеличивают пролиферацию Т-клеток в анализе Реакции Смешанных Лимфоцитов (MLR); (c) увеличивают продукцию интерферона- γ в анализе MLR; (d) увеличивают секрецию IL-2 в анализе MLR; (e) стимулируют реакции антител;

и (е) обращают действие Т-регуляторных клеток на Т-клеточные эффекторные клетки и/или дендритные клетки. Антитела к PD-L1, используемые в настоящем изобретении, включают моноклональные антитела, которые специфически связываются с PD-L1 человека и проявляют по меньшей мере одну, в некоторых вариантах выполнения изобретения по меньшей мере пять из предыдущих характеристик.

[0162] В определенных вариантах выполнения изобретения антитело к PD-L1 представляет собой BMS-936559 (ранее 12A4 или MDX-1105) (см., напр., Патент США No. 7,943,743; WO 2013/173223), которые включены в настоящий документ посредством ссылки. В других вариантах выполнения изобретения антитело к PD-L1 представляет собой MPDL3280A (также известное как RG7446 и атезолизумаб) (см., напр., Herbst et al. 2013 J Clin Oncol 31(suppl):3000; Патент США No. 8,217,149), MEDI4736 (Khleif, 2013, In: Proceedings from the European Cancer Congress 2013; September 27-October 1, 2013; Amsterdam, The Netherlands. Abstract 802) или MSB0010718C (также называемое Авелумаб; см. US 2014/0341917), которые включены в настоящий документ посредством ссылки. В определенных вариантах выполнения изобретения антитела, которые перекрестно конкурируют за связывание с PD-L1 человека или связываются с той же эпитопной областью PD-L1 человека, что и вышеупомянутые антитела к PD-L1, являются mAb. Для введения субъектам-людям эти перекрестно конкурирующие антитела могут быть химерными антителами или могут быть гуманизированными или человеческими антителами. Такие химерные, гуманизированные или человеческие mAb могут быть получены и выделены способами, хорошо известными в данной области техники. В определенных вариантах выполнения изобретения антитела к PD-L1 выбираются из группы, состоящей из BMS-936559 (также известного как 12A4, MDX-1105; см., напр., Патент США No. 7,943,743 и WO 2013/173223), атезолизумаба (Roche; также известного как TECENTRIQ®; MPDL3280A, RG7446; см. US 8,217,149; см также Herbst et al. (2013) J Clin Oncol 31(suppl):3000), дурвалумаба (AstraZeneca; также известного как IMFINZI™, MEDI-4736; см. WO 2011/066389), авелумаба (Pfizer; также известного как BAVENCIO®, MSB-0010718C; см. WO 2013/079174), STI-1014 (Sorrento; см. WO2013/181634), CX-072 (Cytomx; см. WO2016/149201), KN035 (3D Med/Alphamab; см. Zhang et al., Cell Discov. 7:3 (March 2017), LY3300054 (Eli Lilly Co.; см., напр., WO 2017/034916) и CK-301 (Checkpoint Therapeutics; см. Gorelik et al., AACR:Abstract 4606 (Apr 2016)), которые включены в настоящий документ посредством ссылки.

[0163] В определенных вариантах выполнения изобретения антитело PD-L1 представляет собой атезолизумаб (TECENTRIQ®). Атезолизумаб представляет собой полностью гуманизированное моноклональное антитело IgG1 к PD-L1.

[0164] В определенных вариантах выполнения изобретения антитело PD-L1 представляет собой дурвалумаб (IMFINZI™). Дурвалумаб представляет собой человеческое моноклональное антитело IgG1 каппа к PD-L1.

[0165] В определенных вариантах выполнения изобретения антитело PD-L1 представляет собой авелумаб (BAVENCIO®). Авелумаб представляет собой человеческое моноклональное антитело IgG1 лямбда к PD-L1.

[0166] В других вариантах выполнения изобретения моноклональное антитело к PD-L1 выбирается из группы, состоящей из 28-8, 28-1, 28-12, 29-8, 5H1 и любой их комбинации.

[0167] Антитела к PD-L1, которые можно использовать в раскрытых способах, также включают выделенные антитела, которые специфически связываются с PD-L1 человека и перекрестно конкурируют за связывание с PD-L1 человека с любыми антителами к PD-L1, раскрытыми в настоящем документе, напр., атезолизумабом, дурвалумабом и/или авелумабом. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к PD-L1 связывает тот же эпитоп, что и любое из антител к PD-L1, описанных в настоящем документе, например, атезолизумаб, дурвалумаб и/или авелумаб. Способность антител к перекрестной конкуренции за связывание с антигеном указывает на то, что эти антитела связываются с одной и той же эпитопной областью антигена и стерически препятствуют связыванию других перекрестно конкурирующих антител с этой конкретной эпитопной областью. Ожидается, что эти перекрестно конкурирующие антитела будут обладать функциональными свойствами, очень похожими на свойства референтного антитела, напр., атезолизумаба и/или авелумаба, в силу их связывания с одной и той же эпитопной областью PD-L1. Перекрестно-конкурирующие антитела могут быть легко идентифицированы на основе их способности перекрестно конкурировать с атезолизумабом и/или авелумабом в стандартных анализах связывания с PD-L1, таких как анализ Вiascore, анализ ELISA или проточная цитометрия (см., напр., WO 2013/173223, который включен в настоящий документ посредством ссылки).

[0168] В определенных вариантах выполнения изобретения антитела, которые перекрестно конкурируют за связывание с PD-L1 человека или связываются с той же эпитопной областью PD-L1 человека, такие как атезолизумаб, дурвалумаб и/или авелумаб, являются моноклональными антителами. Для введения субъектам-людям эти перекрестно конкурирующие антитела являются химерными антителами, сконструированными антителами, или гуманизированными, или человеческими антителами. Такие химерные, сконструированные, гуманизированные или человеческие моноклональные антитела могут быть получены и выделены способами, хорошо известными в данной области техники.

[0169] Антитела к PD-L1, используемые в способах раскрытого изобретения, также включают антигенсвязывающие части вышеуказанных антител. Было наглядно продемонстрировано, что антигенсвязывающая функция антитела может быть выполнена фрагментами полноразмерного антитела.

[0170] Антитела к PD-L1, пригодные для использования в раскрытых способах или композициях, представляют собой антитела, которые связываются с PD-L1 с высокой специфичностью и аффинностью, блокируют связывание PD-1 и ингибируют иммуносупрессивное действие сигнального пути PD-1. В любой из композиций или

способах, раскрытых в настоящем документе, «антитело» к PD-L1 включает антигенсвязывающую часть или фрагмент, который связывается с PD-L1 и проявляет функциональные свойства, аналогичные функциональным свойствам целых антител, ингибируя связывание рецепторов и ап-регулируя иммунную систему. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело к PD-L1 или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурирует с атезолизумабом, дурвалумабом и/или авелумабом за связывание с PD-L1 человека.

[0171] Антитела к PD-L1, пригодные для изобретения, включают антитела, сконструированные, начиная с антител, имеющих одну или несколько из описанных в настоящем документе последовательностей V_H и/или V_L , где сконструированные антитела могут иметь измененные свойства по сравнению с исходными антителами. Антитело к PD-L1 может быть сконструировано с помощью различных модификаций, как описано выше для конструирования модифицированных антител к PD-1 по изобретению.

6. Химиотерапевтические Агенты

[0172] Способы по изобретению включают применение одного или нескольких химиотерапевтических агентов в комбинации с ингибитором LAG-3 и ингибитором пути PD-1 для лечения злокачественных опухолей. В одном варианте выполнения изобретения химиотерапевтический агент считается стандартом для лечения злокачественной опухоли. «Химиотерапевтический агент» представляет собой химическое соединение, пригодное для лечения рака. Примеры химиотерапевтических агентов включают алкилирующие агенты, такие как тиотепа и циклофосфамид (CYTOXAN[®]); алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбокон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая альтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилентифосфорамид и триметилмеламин; ацетогенины (особенно булатацин и булатацинон); дельта-9-тетрагидроканнабинол (дронабинол, MARINOL[®]); бета-лапахон; лапахол; колхицины; бетулиновая кислота; камптотецин (включая синтетический аналог топотекана (HYCAMTIN[®]), CPT-11 (иринотекан, CAMPTOSAR[®]), ацетилкамптотецин, скополектин и 9-аминокамптотецин); бриостатин; каллистатин; CC-1065 (включая его синтетические аналоги адозелезин, карзелезин и бизелезин); подофиллотоксин; подофиллиновая кислота; тенипозид; криптофицины (в частности, криптофицин 1 и криптофицин 8); доластатин; дуокармицин (включая синтетические аналоги, KW-2189 и CB1-TM1); элеутеробин; панкреатистатин; а саркодиктин; спонгистатин; азотистые иприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорофосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, гидрохлорид оксида мехлорэтамина, мелфалан, новембихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урациловый иприт; нитрозомочевины, такие как кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин и ранимустин; антибиотики, такие как энедииновые антибиотики (*напр.*,

калихеамицин, особенно калихеамицин gammaII и калихеамицин omegaII (см., напр., Nicolaou *et al.*, *Angew. Chem Intl. Ed. Engl.*, 33: 183-186 (1994)); CDP323, пероральный ингибитор альфа-4 интегрина; динемидин, включая динемидин А; эсперамицин; а также хромофор неокарзиностати́на и родственный хромопротеин ендиин (антибиотик хромофоры), аклациномизины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, карабицин, карминомицин, карзинофилин, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин (включая ADRIAMYCIN[®], морфолинодоксорубицин, цианоморфолинодоксорубицин, 2-пирролинодоксорубицин, липосомную инъекцию доксорубицина HCl (DOXIL[®]), липосомальный доксорубицин TLC D-99 (MYOCET[®]), пэгилированный липосомальный доксорубицин (CAELYX[®]) и дезоксидоксорубицин), эпирубицин, эзорубицин, идарубицин, марцелломицин, митомицины, такие как митомицин С, микофеноловая кислота, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, порфирамицин, пуромицин, келамицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностати́н, зорубицин; антиметаболиты, такие как метотрексат, гемцитабин (GEMZAR[®]), тегафур (UFTORAL[®]), капецитабин (XELODA[®]), эпотилон и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птеро́птерин, триметрексат; аналоги пурина, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидина, такие как анцита́бин, азаци́тидин, 6-азаури́дин, кармофур, цитара́бин, дидезоксиури́дин, докси́флури́дин, эно́цита́бин, фло́ксури́дин; андрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпитиостанол, мепитиостан, тестолактон; анти-надпочечники, такие как аминоклутетимид, митоган, трилостан; восполнитель фолиевой кислоты, такой как фролиновая кислота; ацеглатон; гликозид альдофосфамида; аминоклевулиновая кислота; энилурацил; амсакрин; бестрабуцил; бисантрен; эдатраксат; дефофамин; демеколцин; диазиквон; эльфорнитин; эллиптиния ацетат; эпотилон; этоглюцид; нитрат галлия; гидроксимочевина; лентинан; лонидаинин; майтанзиноиды, такие как майтанзин и ансамитоцины; митогуазон; митоксантрон; мопиданмол; нитраерин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; лозоксантрон; 2-этилгидразид; прокарбазин; полисахаридный комплекс PSK[®] (JHS Natural Products, Eugene, Oreg.); разоксан; ризоксин; сизофиран; спирогерманий; тенуазоновая кислота; триазиквон; 2,2',2'-трихлортриэтиламин; трихотецены (особенно токсин Т-2, верракурин А, роридин А и анги́дин); уретан; виндезин (ELDISINE[®], FILDESIN[®]); дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид («Ага-С»); тиотепа; таксоид, напр. паклитаксел (TAXOL[®]), состав паклитаксела в виде наночастиц, созданный на основе альбумина (ABRAXANE[™]) и доцетаксел (TAXOTERE[®]); хлоранбуцил; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; платиновые агенты, такие как цисплатин, оксалиплатин (напр., ELOXATIN[®]) и карбоплатин; барвинок, которые предотвращают образование микротрубочек при полимеризации тубулина, включая винбластин (VELBAN[®]), винкристин (ONCOVIN[®]), виндезин (ELDISINE[®], FILDESIN[®]) и винорелбин

(NAVELBINE®); этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксантрон; лейковорин; новантрон; эдатрексат; дауномицин; аминоптерин; ибандронат; ингибитор топоизомеразы RFS 2000; дифторметилорнитин (DMFO); ретиноиды, такие как ретиноевая кислота, включая бексаротен (TARGRETIN®); бисфосфонаты, такие как клодронат (например, BONEFOS® или OSTAC®), этидронат (DIDROCAL®), NE-58095, золедроновая кислота/золедронат (ZOMETA®), алендронат (FOSAMAX®), памидронат (AREDIA®), тилудронат (SKELID®) или ризедронат (ACTONEL®); троксацитабин (аналог цитозина 1,3-диоксоланового нуклеозида); антисмысловые олигонуклеотиды, особенно те, которые ингибируют экспрессию генов в сигнальных путях, участвующих в aberrантной пролиферации клеток, такие как, например, PKC-альфа, Raf, H-Ras и рецептор эпидермального фактора роста (EGF-R); вакцины, такие как вакцина THERATOPE® и вакцины для генной терапии, например вакцина ALLOVECTIN®, вакцина LEUVECTIN® и вакцина VAXID®; ингибитор топоизомеразы 1 (напр., LURTOTECAN®); gmRH (напр., ABARELIX®); BAY439006 (сорафениб; Bayer); SU-11248 (сунитиниб, SUTENT®, Pfizer); перифозин, ингибитор ЦОГ-2 (напр., целекоксиб или эторикоксиб), ингибитор протеасом (напр., PS341); бортезомиб (VELCADE®); CCI-779; типифарниб (R11577); орафениб, ABT510; ингибитор Bcl-2, такой как облимерсен натрия (GENASENSE®); пиксантрон; ингибиторы EGFR (см. определение ниже); ингибиторы тирозинкиназы (см. определение ниже); ингибиторы серин-треонинкиназы, такие как рапамицин (сиролимус, RAPAMUNE®); ингибиторы фарнезилтрансферазы, такие как лонафарниб (SCH 6636, SARASAR™); и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных; а также комбинации двух или более из вышеперечисленных, таких как CHOP, аббревиатура для комбинированной терапии циклофосфамидом, доксорубицином, винкристином и преднизолоном; IFL, аббревиатура для схемы лечения иринотеканом в сочетании с 5-фторурацилом и лейковорином; XELOX, аббревиатура для схемы лечения оксалиплатином (ELOXATIN™) в сочетании с капецитабином, SOX, аббревиатура для схемы лечения оксалиплатином (ELOXATIN™) в сочетании с тегафуром/гимерацитом/отерацилом калия и FOLFOX, аббревиатура для схемы лечения оксалиплатином (ELOXATIN™) в сочетании с 5-FU и лейковорином. В некоторых вариантах выполнения изобретения одним или несколькими химиотерапевтическими агентами для способов по изобретению являются XELOX, FOLFOX или SOX.

[0173] Химиотерапевтические агенты, определенные в настоящем документе, включают «антигормональные агенты» или «эндокринные терапевтические средства», которые действуют, регулируя, уменьшая, блокируя или ингибируя эффекты гормонов, которые могут способствовать росту рака. Они могут быть сами по себе гормонами, включая, но без ограничения: анти-эстрогены со смешанным профилем агониста/антагониста, включая, тамоксифен (NOLVADEX®), 4-гидрокситамоксифен, торемифен (FARESTON®), идоксифен, дролоксифен, ралоксифен (EVISTA®), триоксифен, кеоксифен, и селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов (SERM), такие как

SERM3; чистые анти-эстрогены без агонистических свойств, такие как фулвестрант (FASLODEX[®]) и EM800 (такие агенты могут блокировать димеризацию рецепторов эстрогена (ER), ингибировать связывание ДНК, увеличивать обмен ER и/или супрессировать уровни ER); ингибиторы ароматазы, включая стероидные ингибиторы ароматазы, такие как форместан и экземестан (AROMASIN[®]), и нестероидные ингибиторы ароматазы, такие как анастрозол (ARIMIDEX[®]), летрозол (FEMARA[®]) и аминоглютетимид, и другие ингибиторы ароматазы включают ворозол (RIVISOR[®]), ацетат мегестрола (MEGASE[®]), фадрозол и 4(5)-имидазолы; агонисты лютеинизирующего гормона-высвобождающего гормона, включая лейпролид (LUPRON[®] и ELIGARD[®]), гозерелин, бузерелин и триптерелин; половые стероиды, включая прогестины, такие как мегестрола ацетат и медроксипрогестерона ацетат, эстрогены, такие как диэтилстилбестрол и премарин, и андрогены/ретиноиды, такие как флюоксиместерон, все трансретиноевые кислоты и фенретинид; онапристон; анти-прогестероны; супрессоры рецепторов эстрогена (ERD); антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид и бикалутамид; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из указанных выше; а также комбинации двух или более из указанных выше.

7. Фармацевтические Композиции

[0174] Фармацевтические композиции, пригодные для введения пациентам-людям, обычно состоят для парентерального введения, напр., в жидком носителе, или пригодны для восстановления в жидкий раствор или суспензию для внутривенного введения.

[0175] В целом, такие композиции обычно содержат фармацевтически приемлемый носитель. Как используется в настоящем документе, термин «фармацевтически приемлемый» означает одобренный правительственным регулирующим органом или указанный в Фармакопее США или другой общепризнанной фармакопее для использования на животных, особенно на людях. Термин «носитель» относится к разбавителю, адьюванту, эксципиенту или транспортирующему средству, с помощью которого вводится соединение. Такими фармацевтическими носителями могут быть стерильные жидкости, такие как вода и масла, в том числе нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло, глицерин полиэтиленгликоль рицинолеат и тому подобное. Вода или водный раствор физиологического раствора и водные растворы декстрозы и глицерина могут быть использованы в качестве носителей, особенно для инъекционных растворов (напр., содержащих антитела к LAG-3 и/или к PD-1). Жидкие композиции для парентерального введения могут быть приготовлены для введения путем инъекции или непрерывной инфузии. Пути введения посредством инъекции или инфузии включают внутривенное, внутрибрюшинное, внутримышечное, интратекальное и подкожное. В одном варианте выполнения изобретения антитела к

LAG-3 и/или к PD-1 вводят внутривенно (*напр.*, в отдельных составах или совместно (в одном и том же составе или в отдельных составах)).

8. Популяции Пациентов

[0176] Изобретение относится к клиническим способам лечения злокачественных опухолей (*напр.*, распространенных рефрактерных солидных опухолей и гематологических злокачественных новообразований) у пациентов-людей с применением иммунотерапии, раскрытой в настоящем документе, например, комбинацией ингибитора LAG-3 (*напр.*, антитела к LAG-3), ингибитора пути PD-1 (*напр.*, антитела к PD-1) и одного или нескольких химиотерапевтических агентов.

[0177] Примеры злокачественных опухолей, которые можно лечить с помощью способов по изобретению, включают рак печени, гепатоцеллюлярную карциному (HCC), рак кости, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак полости рта, рак головы и шеи, рак молочной железы, рак легкого, мелкоклеточный рак легкого, NSCLC, кожную или внутриглазную злокачественную меланому, рак почки, рак матки, рак яичников, колоректальный рак, рак толстой кишки, ректальный рак, рак анальной области, рак желудка, рак гастроэзофагеального перехода, рак яичка, рак матки, карциному фаллопиевых труб, карциному эндометрия, карциному шейки матки, карциному влагалища, карциному вульвы, плоскоклеточную карциному головы и шеи (SCCHN), неходжкинскую лимфому, рак пищевода, рак тонкой кишки, рак эндокринной системы, рак щитовидной железы, рак паращитовидной железы, рак надпочечника, саркому мягких тканей, рак мочеиспускательного канала, рак пениса, солидные опухоли детского возраста, лимфоцитарную лимфому, рак мочевого пузыря, рак почки или мочеточника, карциному почечных лоханок, неоплазму центральной нервной системы (ЦНС), первичную лимфому ЦНС, опухолевый ангиогенез, опухоль оси позвоночника, глиому ствола головного мозга, аденому гипофиза, саркому Капоши, эпидермоидный рак, плоскоклеточный рак, индуцированные окружающей средой раковые заболевания, включая вызванные асбестом, онкогематологические заболевания, в том числе, например, множественная миелома, В-клеточная лимфома, лимфома Ходжкина/первичная медиастинальная В-клеточная лимфома, неходжкинские лимфомы, острая миелоидная лимфома, хронический миелоидный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, фолликулярная лимфома, диффузная В-крупноклеточная лимфома, лимфома Беркитта, иммунобластная крупноклеточная лимфома, предшественник В-лимфобластной лимфомы, лимфома из клеток мантии, острый лимфобластный лейкоз, фунгоидный микоз, анапластический крупноклеточная лимфома, Т-клеточная лимфома и предшественник Т-лимфобластной лимфомы, а также любые комбинации указанных видов рака. Настоящее изобретение также применимо для лечения метастатических раковых заболеваний.

[0178] В одном варианте выполнения изобретения пациент-человек страдает от злокачественной опухоли, которая является рефрактерной к лечению ингибитором

контрольных точек иммунного ответа. В другом варианте выполнения изобретения пациент страдает злокачественной опухолью, которая является рефрактерной к лечению ингибитором PD-1. В другом варианте выполнения изобретения пациент страдает злокачественной опухолью, которая является рефрактерной к лечению антителом к PD-1. В другом варианте выполнения изобретения пациент страдает злокачественной опухолью, которая является рефрактерной к лечению антителом к PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой рак желудка или рак гастроэзофагеального перехода.

[0179] В одном варианте выполнения изобретения пациент-человек страдает раком желудка или раком гастроэзофагеального перехода. В другом варианте выполнения изобретения пациент страдает раком желудка или раком гастроэзофагеального перехода, который является рефрактерным к лечению с помощью противораковой терапии. В некоторых вариантах выполнения изобретения терапия рака может быть лучевой терапией, хирургией, химиотерапией, генной терапией, ДНК-терапией, вирусной терапией, РНК-терапией, иммунотерапией, трансплантацией костного мозга, нанотерапией, терапией моноклональными антителами или комбинацией вышеперечисленных. Терапия может быть в форме адъювантной или неоадъювантной терапии. «Адъювантная терапия», как используется в настоящем документе, относится к лечению рака, проводимому после основного лечения, чтобы снизить риск того, что рак вернется. Адъювантная терапия может включать химиотерапию, лучевую терапию, гормональную терапию, таргетную терапию или биологическую терапию. Адъювантная терапия часто используется после первичного лечения, такого как хирургия или облучение. Адъювантная терапия, проводимая перед основным лечением, называется неоадъювантной терапией. Этот тип адъювантной терапии также может снизить вероятность возвращения рака, и его часто используют для того, чтобы сделать первичное лечение, напр., хирургическое или лучевое, более эффективным в снижении опухолевой нагрузки. В другом варианте выполнения изобретения пациент страдает раком желудка или раком гастроэзофагеального перехода, который является рефрактерным к лечению химиотерапией. В другом варианте выполнения изобретения пациент страдает раком желудка или раком гастроэзофагеального перехода, который является рефрактерным к лечению ингибитором контрольных точек иммунного ответа. В другом варианте выполнения изобретения пациент страдает раком желудка или раком гастроэзофагеального перехода, который является рефрактерным к лечению ингибитором PD-1. В другом варианте выполнения изобретения пациент страдает раком желудка или раком гастроэзофагеального перехода, который является рефрактерным к лечению антителом к PD-1. В другом варианте выполнения изобретения пациент страдает раком желудка или раком гастроэзофагеального перехода, который является рефрактерным к лечению антителом к PD-L1.

[0180] Пациенты могут быть протестированы или отобраны по одному или нескольким из описанных выше клинических признаков до, во время или после лечения.

[0181] В соответствии с описанными в настоящем документе способами злокачественные опухоли могут быть протестированы для определения экспрессии LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественные опухоли, обработанные в соответствии с описанными в настоящем документе способами, являются положительными по LAG-3 опухолями. В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 аденокарциному желудка или аденокарциному гастроэзофагеального перехода.

[0182] В некоторых вариантах выполнения изобретения по меньшей мере около 0,5%, по меньшей мере около 1%, по меньшей мере около 2%, по меньшей мере около 3%, по меньшей мере около 4%, по меньшей мере около 5%, по меньшей мере около 6%, по меньшей мере около 7%, по меньшей мере около 8%, по меньшей мере около 9%, по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25% или по меньшей мере около 30% от общего числа клеток злокачественной опухоли экспрессируют LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения процент клеток, экспрессирующих LAG-3, оценивают путем выполнения анализа для обнаружения присутствия РНК LAG-3. В дополнительных вариантах выполнения изобретения присутствие РНК LAG-3 обнаруживается с помощью RT-PCR, гибридизации *in situ* или защиты РНазой. В некоторых вариантах выполнения изобретения присутствие РНК LAG-3 обнаруживается с помощью анализа на основе RT-PCR. В других вариантах выполнения изобретения процент клеток, экспрессирующих LAG-3, оценивают путем выполнения анализа для обнаружения присутствия полипептида LAG-3. В некоторых вариантах выполнения изобретения присутствие полипептида LAG-3 обнаруживается с помощью ИHC, ELISA, визуализации *in vivo* или проточной цитометрии. В некоторых вариантах выполнения изобретения экспрессия LAG-3 анализируется с помощью ИHC.

[0183] В соответствии с описанными в настоящем документе способами злокачественные опухоли могут быть протестированы для определения экспрессии LAG-3 и PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественные опухоли, обработанные в соответствии с описанными в настоящем документе способами, являются положительными по LAG-3 положительными по PD-L1 опухолями. В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3, положительную по PD-L1 аденокарциному желудка или аденокарциному гастроэзофагеального перехода.

[0184] В вариантах выполнения изобретения пациент является отрицательным по HER2. В некоторых вариантах выполнения изобретения у пациента имеется гистологически или цитологически подтвержденный диагноз неоперабельного, местнораспространенного или метастатического рака желудка или аденокарциномы гастроэзофагеального перехода. В определенных вариантах выполнения изобретения пациент не получал предшествующего систематического лечения. В вариантах выполнения изобретения пациент не получал ингибиторы HER2. В конкретных вариантах выполнения

изобретения, пациент не имеет известных необработанных метастазов в центральную нервную систему. В вариантах выполнения изобретения у пациента нет неконтролируемого или значимого сердечно-сосудистого заболевания. В некоторых вариантах выполнения изобретения пациент имеет балл оценки функционального статуса ECOG 0 или 1.

9. Иммуноterapiи

[0185] В одном аспекте иммунотерапия, представленная в настоящем документе, включает введение ингибитора LAG-3 (*напр.*, антитела к LAG-3), ингибитора пути PD-1 (*напр.*, антитела к PD-1 или антитела к PD-L1) и одного или нескольких химиотерапевтических агентов для лечения субъектов, имеющих злокачественные опухоли (*напр.*, прогрессирующие рефрактерные солидные опухоли или гематологические злокачественные новообразования).

[0186] В одном варианте выполнения изобретение относится к антителу к LAG-3 и антителу к PD-1 в комбинации с химиотерапевтическими агентами в соответствии с определенным клиническим режимом дозирования для лечения субъектов, имеющих злокачественную опухоль (*напр.*, прогрессирующую рефрактерную солидную опухоль). В конкретном варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3 представляет собой BMS-986016. В другом варианте выполнения изобретения антитело к PD-1 представляет собой BMS-936558. В другом варианте выполнения изобретения схемы дозирования фиксированы. В другом варианте выполнения изобретения схемы дозирования корректируются таким образом, чтобы обеспечить оптимальный желаемый ответ (*напр.*, эффективный ответ).

[0187] Как используется в настоящем документе, дополнительное или комбинированное введение (совместное введение) включает одновременное введение соединений в одной и той же или различной дозированной форме или раздельное введение соединений (*напр.*, последовательное введение). Так, например, антитела к LAG-3 и к PD-1 могут быть одновременно введены в одном составе. В качестве альтернативы антитела к LAG-3 и к PD-1 могут быть составлены для раздельного введения и вводятся одновременно или последовательно (*напр.*, одно антитело вводится в течение около 30 минут перед введением второго антитела).

[0188] Например, сначала может быть введено антитело к PD-1, а затем (*напр.*, сразу же) введено антитело к LAG-3 или наоборот. В одном варианте выполнения изобретения антитело к PD-1 вводят перед введением антитела к LAG-3. В другом варианте выполнения изобретения антитело к PD-1 вводят после введения антитела к LAG-3. В другом варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3 и антитело к PD-1 вводят одновременно. Такое одновременное или последовательное введение предпочтительно приводит к тому, что оба антитела одновременно присутствуют у пациентов на лечении.

10. Протоколы Лечения

[0189] В одном аспекте подходящие протоколы лечения злокачественной опухоли у человека включают введение пациенту эффективного количества ингибитора LAG-3 (напр., антитела к LAG-3), ингибитора пути PD-1 (напр., антитела к PD-1) и одного или нескольких химиотерапевтических агентов.

[0190] В некоторых вариантах выполнения изобретения подходящий протокол лечения злокачественной опухоли у пациента-человека включает, например, введение пациенту эффективного количества каждого из:

[0191] (a) антитела к LAG-3, такого как антитела, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5,

[0192] (b) антитела к PD-1, такого как антитела, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:21, и

[0193] (c) одного или нескольких химиотерапевтических агентов,

[0194] при этом способ включает по меньшей мере один цикл введения, где цикл представляет собой период в шесть недель, при этом для каждого из по меньшей мере одного цикла вводят по меньшей мере две дозы антитела к LAG-3 в дозе около 1, 3, 10, 20, 50, 80, 100, 120, 130, 150, 160, 180, 200, 240 или 280 мг и по меньшей мере две дозы антитела к PD-1 вводят в дозе около 50, 80, 100, 130, 150, 180, 200, 240, 280, 320, 360, 400, 440, или 480 мг. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 вводят в дозе около 320, 360, 400, 440, 480, 520, 560, 600, 640, 680, 720, 760, 800, 840, 880, 920, 960 или 1000 мг. В определенных вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 вводят в дозе около 1040, 1080, 1120, 1160, 1200, 1240, 1280, 1320, 1360, 1400, 1440, 1480, 1520, 1560, 1600, 1640, 1680, 1720, 1760, 1800, 1840, 1880, 1920, 1960 или 2000 мг. В конкретных вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 вводят в дозе около 480 мг. В другом варианте выполнения изобретения четыре дозы антитела к LAG-3 вводят в дозе 0,01, 0,03, 0,25, 0,1, 0,3, 1 или 3, 5, 8 или 10 мг/кг массы тела и четыре дозы антитела к PD-1 вводят в дозе 0,1, 0,3, 1, 3, 5, 8 или 10 мг/кг массы тела.

[0195] В определенных вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 вводят в дозе от около 300 мг до около 500 мг один раз в три недели. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 вводят в дозе около 400 мг один раз в три недели. В некоторых вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 вводят в дозе от около 700 мг до около 900 мг один раз в четыре недели.

[0196] В дополнительном варианте выполнения изобретения вводят один или несколько химиотерапевтических агентов. В одном варианте выполнения изобретения по меньшей мере один химиотерапевтический агент вводят внутривенно. В одном варианте

выполнения изобретения по меньшей мере один химиотерапевтический агент вводят перорально.

[0197] В одном варианте выполнения изобретения один или несколько химиотерапевтических агентов вводят с использованием дозирования на основе площади поверхности тела.

[0198] В одном варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3 и антитело к PD-1 вводят в следующих дозах:

[0199] а) 120 мг антитела к LAG-3 и 360 мг антитела к PD-1; или

[0200] (b) 160 мг антитела к LAG-3 и 480 мг антитела к PD-1.

[0201] В одном варианте выполнения изобретения опухоль представляет собой рак желудка или гастроэзофагеального перехода.

[0202] В другом варианте выполнения изобретения количество вводимых антител к LAG-3 и/или к PD-1 является постоянным для каждой дозы. В другом варианте выполнения изобретения количество вводимого антитела изменяется с каждой дозой. Например, поддерживающая (или последующая) доза антитела может быть выше или такой же, как и нагрузочная доза, которая вводится первой. В другом варианте выполнения изобретения поддерживающая доза антитела может быть ниже или такой же, как и нагрузочная доза.

[0203] В другом варианте выполнения изобретения антитела к LAG-3 и к PD-1 составлены для внутривенного введения. В одном варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3 и антитело к PD-1 вводят на 1-й и 22-й Дни каждого цикла. В одном варианте выполнения изобретения один или несколько химиотерапевтических агентов вводят в 1-й и 22-й Дни каждого цикла. В одном варианте выполнения изобретения один или несколько химиотерапевтических агентов вводят по меньшей мере один раз в день.

[0204] В другом варианте выполнения изобретения цикл введения составляет шесть недель, которые могут быть повторены по мере необходимости. В другом варианте выполнения изобретения лечение состоит из вплоть до 12 циклов.

[0205] В одном варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3 и антитело к PD-1 вводят в следующих дозах: (а) 120 мг антитела к LAG-3 и 360 мг антитела к PD-1 в 1-й и 22-й дни каждого цикла лечения каждые 6 недель; и вводят оксалиплатин и капецитабин (XELOX). В дополнительном варианте выполнения изобретения оксалиплатин 130 мг/м² вводят в 1-й и 22-й дни каждого цикла лечения каждые 6 недель, а капецитабин 1000 мг/м² вводят дважды в день в дни с 1 по 14 и с 22 по 35-й дни каждого цикла лечения каждые 6 недель.

[0206] В одном варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3 и антитело к PD-1 вводят в следующих дозах: а) 160 мг антитела к LAG-3 и 480 мг антитела к PD-1 в 1-й и 29-й дни каждого нечетного цикла (цикл 1, 3, 5 и т.д.) и 15-й день каждого четного цикла (цикл 2, 4, 6 и т.д.) и вводят оксалиплатин, лейковорин, фторурацил (FOLFOX). В дополнительном варианте выполнения изобретения оксалиплатин 85 мг/м², лейковорин 400 мг/м² и фторурацил 400 мг/м² вводят в дни 1, 15 и 29 каждого цикла лечения каждые

6 недель, а фторурацил 1200 мг/м² - в дни 1 и 2, 15 и 16, 29 и 30 каждого цикла лечения каждые 6 недель.

[0207] В одном варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3 и антитело к PD-1 вводят в следующих дозах: (а) 120 мг антитела к LAG-3 и 360 мг антитела к PD-1 в 1-й и 22-й дни каждого цикла лечения каждые 6 недель; и вводят оксалиплатин и тегафур/гимерацил/отерацил (Oral S-1) (SOX). В дополнительном варианте выполнения изобретения оксалиплатин в дозе 130 мг/м² вводят в 1-й и 22-й дни каждого цикла лечения каждые 6 недель, а Oral S-1 вводят дважды в день в дни с 1 по 14 и с 22 по 35-й дни каждого цикла лечения каждые 6 недель. В дополнительном варианте выполнения изобретения дозу S-1 рассчитывают в соответствии с площадью поверхности тела (BSA, мг/м²/доза): BSA <1,25 м², 40 мг/доза; ≥ 1,25 и < 1,5 м², 50 мг/доза; ≥ 1,5 м², 60 мг/доза.

[0208] В другом варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3, антитело к PD-1 и химиотерапевтические агенты вводят в качестве первой линии лечения (напр., начального или первого лечения). В другом варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3, антитело к PD-1 и химиотерапевтические агенты вводят в качестве второй линии лечения (напр., после начального или первого лечения, в том числе после рецидива и/или в случае неудачи первого лечения).

[0209] В одном варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3 представляет собой BMS-986016, а антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб. В одном варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3 представляет собой МК-4280, а антитело к PD-1 представляет собой пембролизумаб. В одном варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3 представляет собой REGN3767, а антитело к PD-1 представляет собой REGN2810. В одном варианте выполнения изобретения антитело к LAG-3 представляет собой LAG525, а антитело к PD-1 представляет собой PDR001.

[0210] В одном варианте выполнения изобретения пациенту вводят эффективное количество: (а) антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5, (б) антитела к PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:15 и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:17, и (с) одного или нескольких химиотерапевтических агентов, выбранных из группы, состоящей из XELOX, FOLFOX и SOX. В вариантах выполнения изобретения способ применяют к пациенту, который не получал предшествующую терапию (напр., терапию первой линии). В некоторых вариантах выполнения изобретения предшествующая терапия представляет собой ингибитор HER2. В конкретных вариантах выполнения изобретения антитело к LAG-3 и антитело к PD-1 вводят в виде комбинации фиксированных доз. В вариантах выполнения изобретения пациент имеет

рецидивирующий, местнораспространенный или метастатический рак желудка или гастроэзофагеальную аденокарциному.

[0211] В другом аспекте изобретение имеет особенности любого из вышеупомянутых вариантов выполнения, где антитело к PD-1 заменяется или комбинируется с антителом к PD-L1 или к PD-L2.

11. Результаты

[0212] Пациенты, получающие лечение в соответствии с описанными в настоящем документе способами, предпочтительно испытывают улучшение в по меньшей мере одном признаке рака. В одном варианте выполнения изобретения улучшение измеряется уменьшением количества и/или размера измеримых опухолевых поражений. В другом варианте выполнения изобретения поражения могут быть измерены на рентгеновских снимках грудной клетки или пленках КТ или МРТ. В другом варианте выполнения изобретения для оценки чувствительности к терапии может быть использована цитология или гистология.

[0213] В одном варианте выполнения изобретения пациент, получивший лечение, проявляет полный ответ (CR), частичный ответ (PR), стабильное заболевание (SD), полное заболевание, связанное с иммунитетом (irCR), частичный ответ, связанный с иммунитетом (irPR) или стабильное заболевание, связанное с иммунитетом (irSD). В другом варианте выполнения изобретения пациент, получавший лечение, испытывает уменьшение размеров опухоли и/или снижение скорости роста, *т.е.* подавление роста опухоли. В другом варианте выполнения изобретения нежелательная пролиферация клеток снижается или ингибируется. В еще другом варианте выполнения изобретения может произойти одно или несколько из следующих событий: количество раковых клеток может быть уменьшено; размер опухоли может быть уменьшен; инфильтрация раковых клеток в периферические органы может быть ингибирована, заторможена, замедлена или остановлена; метастазирование опухоли может быть замедлено или ингибировано; рост опухоли может быть ингибирован; рецидив опухоли может быть предотвращен или отсрочен; один или несколько симптомов, связанных с раком, могут быть в некоторой степени облегчены.

[0214] В других вариантах выполнения изобретения введение эффективных количеств антитела к LAG-3, антитела к PD-1 и одного или нескольких химиотерапевтических агентов в соответствии с любым из способов, представленных в настоящем документе, производит по меньшей мере один терапевтический эффект, выбранный из группы, состоящей из уменьшения размера опухоли, уменьшения числа метастатических поражений, появляющихся с течением времени, полной ремиссии, частичной ремиссии или стабильного заболевания.

[0215] В еще других вариантах выполнения изобретения способы лечения дают клиническую пользу ($CBR = CR + PR + SD \geq 6$ месяцев) лучшую, чем та, которая достигается способом лечения, который не включает стадию (i) определения уровня экспрессии

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

[0216] В еще других вариантах выполнения изобретения способы лечения дают частоту объективных ответов ($ORR=CR+PR$) по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90% или около 100%. В одном варианте выполнения изобретения способы лечения дают частоту объективных ответов по меньшей мере около 15%, причем злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 меланому, которая устойчива к лечению антителом к PD-1 или к PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения средняя продолжительность ответа составляет ≥ 3 месяца, ≥ 6 месяцев, ≥ 12 месяцев или ≥ 18 месяцев. В одном варианте выполнения изобретения средняя продолжительность ответа составляет ≥ 6 месяцев. В некоторых вариантах выполнения изобретения частота пациентов с длительностью ответа ≥ 6 месяцев составляет по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 99% или 100%.

[0217] В еще других вариантах выполнения изобретения способы лечения дают частоту объективных ответов ($ORR=CR+PR$) лучшую, чем та, которая достигается способом лечения, который не включает этап (i) определения уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли до лечения, (ii) выбора положительной по LAG-3 опухоли для лечения, (iii) лечения опухоли, которая была идентифицирована как положительная по LAG-3 до лечения, или (iv) любых их комбинаций. В других вариантах выполнения изобретения улучшение частоты объективных ответов составляет около 20%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или более по сравнению со способом лечения, который не включает стадию (i) определения уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли до лечения, (ii) выбора положительной по LAG-3 опухоли для лечения, (iii) лечения опухоли, которая была идентифицирована как положительная по LAG-3 до лечения, или (iv) любых их комбинаций. В некоторых вариантах выполнения изобретения средняя продолжительность ответа составляет ≥ 3 месяца, ≥ 6 месяцев, ≥ 12 месяцев или ≥ 18 месяцев. В одном варианте выполнения изобретения средняя продолжительность ответа составляет ≥ 6 месяцев.

[0218] В еще других вариантах выполнения изобретения способы лечения обеспечивают частоту контроля заболевания ($DRR=CR+PR+SD$) по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 99% или около 100%. В одном варианте выполнения изобретения способы лечения обеспечивают частоту контроля заболевания по меньшей мере около 70%, где злокачественная опухоль представляет собой положительную по LAG-3 меланому, которая устойчива к лечению антителом к PD-1 или к PD-L1. В некоторых вариантах выполнения изобретения средняя продолжительность ответа составляет ≥ 3 месяца, ≥ 6 месяцев, ≥ 12 месяцев или ≥ 18 месяцев. В одном варианте выполнения изобретения средняя продолжительность ответа составляет ≥ 6 месяцев. В некоторых вариантах выполнения изобретения частота пациентов с длительностью ответа ≥ 6 месяцев составляет по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 99% или 100%.

[0219] В еще других вариантах выполнения изобретения способы лечения обеспечивают частоту контроля заболевания ($DRR=CR+PR+SD$) лучшую, чем та, которая достигается в способе лечения, который не включает стадию (i) определения уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли до лечения, (ii) выбора положительной по LAG-3 опухоли для лечения, (iii) лечения опухоли, которая была идентифицирована как положительная по LAG-3 до лечения, или (iv) любых их комбинаций. В других вариантах выполнения изобретения улучшение частоты контроля заболевания составляет около 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или более по сравнению со способом лечения, который не включает стадию (i) определения уровня экспрессии LAG-3 в образце опухоли до лечения, (ii) выбора положительной по LAG-3 опухоли для лечения, (iii) лечения опухоли, которая была идентифицирована как положительная по LAG-3 до лечения, или (iv) любых их комбинаций. В некоторых вариантах выполнения изобретения средняя продолжительность ответа составляет ≥ 3 месяца, ≥ 6 месяцев, ≥ 12 месяцев или ≥ 18 месяцев. В одном варианте выполнения изобретения средняя продолжительность ответа составляет ≥ 6 месяцев.

12. Наборы и Единичные Дозированные Формы

[0220] Также в рамках объема настоящего изобретения имеются диагностические наборы, содержащие антитело к LAG-3 для анализа экспрессии LAG-3 в качестве биомаркера для скрининга пациентов на иммунотерапию или для прогнозирования эффективности иммунотерапии. Наборы обычно включают в себя этикетку с указанием предполагаемого использования содержимого набора и инструкции по применению. Термин «этикетка» включает в себя любые письменные или записанные материалы, поставляемые на наборе или в комплекте с ним, или которые иным образом

сопровождает набор. В определенных вариантах выполнения диагностического набора первое антитело к LAG-3 для анализа, обнаружения и/или количественной оценки экспрессии LAG-3 совместно упаковывается по меньшей мере с одним терапевтическим антителом (*напр.*, вторым антителом к LAG-3 и антителом к PD-1) для лечения положительной по LAG-3 опухоли. В некоторых вариантах выполнения изобретения набор дополнительно содержит антитело к PD-L1 для анализа, обнаружения и/или количественной оценки экспрессии PD-L1 в качестве биомаркера для прогнозирования эффективности иммунотерапии. В одном варианте выполнения изобретения иммунотерапия включает введение пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора LAG-3 (*напр.*, антитела к LAG-3), ингибитора пути PD-1 (*напр.*, антитела к PD1) и одного или нескольких химиотерапевтических агентов.

[0221] В некоторых вариантах выполнения изобретения диагностический набор содержит моноклональное антитело к LAG-3 человека для анализа, обнаружения и/или количественной оценки экспрессии LAG-3. См., *напр.*, J. Matsuzaki, *et al.*; *PNAS* 107, 7875 (2010).

[0222] Также в настоящем документе представлены терапевтические наборы, которые включают фармацевтическую композицию, содержащую антитело к LAG-3, такое как BMS-986016, антитело к PD-1, такое как ниволумаб, и один или более химиотерапевтических агентов в терапевтически эффективном количестве, адаптированном для применения в предыдущих способах. В определенных вариантах терапевтического набора антитело к LAG-3 совместно упаковано с антителом к PD-1 в единичной дозированной форме. Наборы необязательно также могут включать инструкции, *напр.*, содержащие графики введения, позволяющие практикующему врачу (*напр.*, врачу, медсестре или пациенту) вводить содержащуюся в них композицию для введения композиции пациенту, страдающему раком (*напр.*, солидной опухолью). В набор также может входить шприц.

[0223] Необязательно, диагностические и/или терапевтические наборы включают несколько упаковок однократных фармацевтических композиций, каждая из которых содержит эффективное количество антитела к LAG-3 или к PD-1 для однократного введения в соответствии с приведенными выше способами. В наборы также могут быть включены инструменты или устройства, необходимые для введения фармацевтической композиции(й). Например, набор может содержать один или несколько предварительно заполненных шприцев, содержащих некоторое количество антитела к LAG-3 или к PD-1.

[0224] В одном варианте выполнения настоящее изобретение относится к набору для лечения пациента, имеющего злокачественную опухоль, где набор, например, содержит:

[0225] (а) дозу антитела к LAG-3, такого как антитело, содержащее домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5;

[0226] (b) дозу антитела к PD-1, такого как антитело, содержащее домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:19, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:21;

[0227] (c) один или несколько химиотерапевтических агентов; и

[0228] (d) инструкции по применению антитела к LAG-3, антитела к PD-1 и одного или нескольких химиотерапевтических агентов в описанных в настоящем документе способах.

[0229] В некоторых вариантах выполнения изобретения злокачественная опухоль представляет собой рак желудка или рак гастроэзофагеального перехода.

[0230] Настоящее изобретение дополнительно иллюстрируется следующими примерами, которые не следует истолковывать как дальнейшее ограничение. Содержание всех ссылок, приведенных в настоящей заявке, прямо включено в нее посредством ссылки.

ПРИМЕРЫ

ПРИМЕР 1

Эффективность Антитела к Гену-3 Активации Лимфоцитов (Anti-LAG-3; BMS-986016) в Комбинации С Ниволумабом и Химиотерапией у Пациентов С Распространенным или Метастатическим Раком Желудка или Раком Гастроэзофагеального Перехода

[0231] Целью данного исследования является оценка комбинации BMS-986016 (релатлимаба), Ниволумаба и химиотерапии при лечении рака желудка или гастроэзофагеального перехода.

[0232] Пациенты отбираются на основании следующих критериев отбора: (1) наличие прогрессирующего или метастатического рака желудка или гастроэзофагеального перехода; (2) отсутствие предшествующего системного лечения; (3) Восточная Кооперативная Онкологическая Группа PS 0-1; (4) отрицательный по HER2 статус; и (5) положительная по LAG-3 опухоль, определенная с помощью ИHC. В этой фазе лечения пациенты будут получать BMS-986016 и ниволумаб в комбинации с химиотерапией на выбор (XELOX, FOLFOX или SOX).

[0233] Пациенты, которым назначен XELOX, будут получать:

[0234] - релатлимаб 120 мг/ниволумаб 360 мг, вводимый IV в течение 60 минут в 1-й и 22-й Дни каждого цикла лечения каждые 6 недель, и

[0235] - Оксалиплатин 130 мг/м², вводимый IV в 1-й и 22-й Дни каждого цикла лечения каждые 6 недель, и

[0236] - Капецитабин 1000 мг/м², вводимый перорально два раза в день в Дни с 1 по 14 и Дни с 22 по 35 каждого цикла лечения каждые 6 недель.

[0237] Пациенты, которым назначен FOLFOX, будут получать:

[0238] - релатлимаб 160 мг/ниволумаб 480 мг, вводимый IV в течение 60 минут в 1-й и 29-й Дни каждого нечетного цикла (Цикл 1, 3, 5 и т.д.) и 15-й день каждого четного Цикла (Цикл 2, 4, 6 и т.д.), и

[0239] - Оксалиплатин 85 мг/м^2 , лейковорин 400 мг/м^2 и фторурацил 400 мг/м^2 , вводимые IV в Дни 1, 15 и 29 каждого цикла лечения каждые 6 недель, и фторурацил 1200 мг/м^2 внутривенно непрерывной инфузией в течение 24 часов ежедневно (или по местному стандарту) в Дни 1 и 2, 15 и 16, а также 29 и 30 каждого цикла лечения каждые 6 недель.

[0240] Пациенты, которым назначен SOX, будут получать:

[0241] - релатлимаб 120 мг/ниволумаб 360 мг, вводимые IV в течение 60 минут в Дни 1 и 22 каждого цикла лечения каждые 6 недель, и

[0242] - Оксалиплатин 130 мг/м^2 , вводимый IV в 1-й и 22-й Дни каждого цикла лечения каждые 6 недель, и

[0243] - Oral S-1 (тегафур/гимерацил/отерацил) два раза в день в Дни с 1 по 14 и с 22 по 35 каждого цикла лечения каждые 6 недель. Доза S-1, рассчитанная в соответствии с площадью поверхности тела (BSA, $\text{мг/м}^2/\text{доза}$): BSA $<1,25 \text{ м}^2$, 40 мг/доза; $\geq 1,25$ и $<1,5 \text{ м}^2$, 50 мг/доза; $\geq 1,5 \text{ м}^2$, 60 мг/доза.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

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

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDYYWNWIRQPPGKGLEWIGEINHRGSTNSNPS
LKSRVTLSLDTSKNQFSLKLRSVTAADTAVYYCAFGYSDYEYNWFDPWGQGTLLTVTVSSASTK
GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHN
HYTQKSLSLSLGK

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

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARF
SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTNLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADY
EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

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

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDYYWNWIRQPPGKGLEWIGEINHRGSTNSNPS
LKSRVTLSLDTSKNQFSLKLRSVTAADTAVYYCAFGYSDYEYNWFDPWGQGTLLTVTVSS

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

caggtgcagctacagcagtggtggggcgaggactggtgaagccttcggagaccctgtccctcac
ctgctgctgtctatggtgggtccttcagtgattactactggaactggatccgccagccccag
ggaaggggctggagtggttggtggaaatcaatcatcgtggaagcaccactccaacccgtcc
ctcaagagtcgagtcaccctatcactagacacgtccaagaaccagttctccctgaagctgag
gtctgtgaccgccgcggacacggctgtgtattactgtgctgttgatatagtgactacgagt
acaactggttcgacccctggggccagggaaccctggtcaccgtctcctca

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

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARF
SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTNLEIK

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

gaaattgtgttgacacagtcctccagccaccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccct
ctcctgcagggccagtcagagtagtagcagctacttagcctggtaccaacagaaacctggcc
aggctcccagggtcctcatctatgatgcacccaacagggccactggcatcccagccaggttc
agtggcagtggtctgggacagacttcactctcaccatcagcagcctagagcctgaagattt
tgcagtttattactgtcagcagcgtagcaactggcctctcacttttggccaggggaccaacc
tggagatcaaa

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

DYYWN

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

EINHRGSTNSNP SLKS

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

GYSDYEYNWFDP

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

RASQSISSYLA

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

DASNRAT

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

QQRSNWPLT

**SEQ ID NO:13 Аминокислотная Последовательность Тяжелой Цепи; mAb к LAG-3
(BMS936558)**

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKRYYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPL
APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGP PCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSL
SLSLGK

SEQ ID NO:14 Аминокислотная Последовательность Легкой Цепи; mAb к LAG-3 (BMS936558)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARF
SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:15 Аминокислотная Последовательность Вариабельной Области (VH) Тяжелой Цепи; mAb к LAG-3 (BMS936558)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKRYYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO:16 Нуклеотидная Последовательность Вариабельной Области (VH) Тяжелой Цепи; mAb к LAG-3 (BMS936558)

cagggtgcagctggtggagctctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactcga
ctgtaaagcgtctggaatcaccttcagtaactctggcatgcactgggtccgccaggctccag
gcaaggggctggagtggtggcagttatttggtatgatggaagtaaaagatactatgcagac
tccgtgaagggccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtttctgcaa
gaacagcctgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgcgacaaacgacgactactggg
gccagggaaccctgggtcaccgtctcctca

SEQ ID NO:17 Аминокислотная Последовательность Вариабельной Области (VL) Легкой Цепи; mAb к LAG-3 (BMS936558)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARF
SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO:18 Нуклеотидная Последовательность Вариабельной Области (VL) Легкой Цепи; mAb к LAG-3 (BMS936558)

gaaattgtgttgacacagctctccagccaccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccct
ctcctgcagggccagtcagagtggttagtagttacttagcctggtagccaacagaaacctggcc
aggctcccaggctcctcatctatgatgcacccaacagggccactggcatcccagccagggttc
agtggcagtggtctgggacagacttcactctcaccatcagcagcctagagcctgaagattt
tgtagtttattactgtcagcagagtagcaactggcctcggacgttcggccaagggaccaagg
tggaatcaaa

SEQ ID NO:19 Аминокислотная Последовательность CDR1 Тяжелой Цепи; mAb к LAG-3 (BMS936558)

NSGMH

SEQ ID NO:20 Аминокислотная Последовательность CDR2 Тяжелой Цепи; mAb к LAG-3 (BMS936558)

VIWYDGSKRYYADSVKG

SEQ ID NO:21 Аминокислотная Последовательность CDR3 Тяжелой Цепи; mAb к LAG-3 (BMS936558)

NDDY

SEQ ID NO:22 Аминокислотная Последовательность CDR1 Легкой Цепи; mAb к LAG-3 (BMS936558)

RASQSVSSYLA

SEQ ID NO:23 Аминокислотная Последовательность CDR2 Легкой Цепи; mAb к LAG-3 (BMS936558)

DASNRAT

SEQ ID NO:24 Аминокислотная Последовательность CDR3 Легкой Цепи; mAb к LAG-3 (BMS936558)

QQSSNWPRT

SEQ ID NO:25 Нуклеотидная Последовательность Тяжелой Цепи; mAb к LAG-3 (BMS-986016)

cagggtgcagctacagcagtggtggcgaggactggtgaagccttcggagaccctgtccctcac
ctgcgctgtctatggtgggtccttcagtgattactactggaactggatccgccagccccag
ggaaggggctggagtggttggggaaatcaatcatcgtggaagcaccaactccaaccgctcc
ctcaagagtcgagtcaccctatcactagacacgtccaagaaccagttctccctgaagctgag
gtctgtgaccgccgcggacacggctgtgtattactgtgcgtttggatatagtgactacgagt
acaactgggttcgacccctggggccagggaaccctgggtcacctgtcctcagctagcaccaag
ggcccatccgtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagccgccct
gggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccc
tgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagc
agcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacgaagacctacacctgcaacgtagatca
caagcccagcaacaccaagggtggacaagagagttgagtcctaatatggtcccccatgccac
catgcccagcacctgagttcctggggggaccatcagtccttctgttccccccaaaaccaag
gacactctcatgatctcccgaccctgaggtcacgtgcgtgggtggacgtgagccagga
agaccccgaggtccagttcaactggtacgtggatggcgtggaggtgcataatgccaagacaa
agccgcgggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcacctgctgcac
caggactggctgaacggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaaggcctcccgtcctc
catcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagagccacaggtgtacaccctgc
ccccatcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtcaaaggcttc
taccacagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagacaactacaagac

cacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttctctacagcaggctaaccgtggaca
agagcaggtggcaggaggggaatgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaac
cactacacacagaagagcctctccctgtctctctgggtaaata

SEQ ID NO:26 Нуклеотидная Последовательность Легкой Цепи; mAb к LAG-3 (BMS-986016)

gaaattgtgttgacacagtctccagccaccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccct
ctcctgcagggccagtcagagtattagcagctacttagcctggtagccaacagaaacctggcc
aggctcccaggctcctcatctatgatgcatccaacagggccactggcatcccagccaggttc
agtggcagtggtctctgggacagacttcactctcaccatcagcagcctagagcctgaagattt
tgcagtttattactgtcagcagcgtagcaactggcctctcacttttggccaggggaccaacc
tggagatcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcag
ttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgctgctgaataacttctatcccagagaggccaa
agtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagc
aggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactac
gagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaa
gagcttcaacaggggagagtgtag

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ ингибирования роста злокачественной опухоли у пациента-человека, включающий введение пациенту эффективного количества каждого из:
 - a) антагониста LAG-3;
 - b) ингибитора пути PD-1; и
 - c) одного или нескольких химиотерапевтических агентов;где ассоциированные с опухолью иммунные клетки пациента экспрессируют LAG-3.
2. Способ лечения рака у пациента-человека, включающий введение пациенту эффективного количества каждого из:
 - a) антагониста LAG-3;
 - b) ингибитора пути PD-1; и
 - c) одного или нескольких химиотерапевтических агентов;где ассоциированные с опухолью иммунные клетки пациента экспрессируют LAG-3.
3. Способ ингибирования роста злокачественной опухоли у пациента-человека, включающий введение пациенту эффективного количества каждого из:
 - a) антагониста LAG-3;
 - b) ингибитора пути PD-1; и
 - c) одного или нескольких химиотерапевтических агентов.
4. Способ лечения рака у пациента-человека, включающий введение пациенту эффективного количества каждого из:
 - a) антагониста LAG-3;
 - b) ингибитора пути PD-1; и
 - c) одного или нескольких химиотерапевтических агентов.
5. Способ по любому одному из п.п. 1-4, в котором злокачественная опухоль выбирается из группы, состоящей из рака печени, рака костей, рака поджелудочной железы, рака кожи, рака полости рта, рака головы или шеи, рака молочной железы, рака легкого, включая мелкоклочечный и немелкоклеточный рак легкого, кожной или внутриглазной злокачественной меланомы, рака почки, рака матки, рак яичников, колоректального рака, рака толстой кишки, ректального рака, рака анальной области, рака желудка, рака яичка, рака матки, карциномы фаллопиевых труб, карциномы эндометрия, карциномы шейки матки, карциномы влагалища, карциномы вульвы, неходжкинской лимфомы, рака пищевода, рака тонкой кишки, рака эндокринной системы, рака щитовидной железы, рака паращитовидной железы, рака надпочечника,

саркомы мягких тканей, рака мочеиспускательного канала, рака пениса, рака детского возраста, лимфоцитарной лимфомы, рака мочевого пузыря, рака почки или мочеточника, карциномы почечных лоханок, неоплазмы центральной нервной системы (ЦНС), первичной лимфомы ЦНС, опухолевого ангиогенеза, опухоли оси позвоночника, глиомы ствола головного мозга, аденомы гипофиза, саркомы Капоши, эпидермоидного рака, плоскоклеточного рака, индуцированных окружающей средой видов рака, в том числе вызванных асбестом, гематологических злокачественностей, в том числе, например, множественной миеломы, В-клеточной лимфомы, лимфомы Ходжкина/первичной медиастинальной В-клеточной лимфомы, неходжкинских лимфом, острой миелоидной лимфомы, хронического миелоидного лейкоза, хронического лимфоцитарного лейкоза, фолликулярной лимфомы, диффузной В-крупноклеточной лимфомы, лимфомы Беркитта, иммунобластной крупноклеточной лимфомы, предшественника В-лимфобластной лимфомы, лимфомы из клеток мантии, острого лимфобластного лейкоза, фунгоидного микоза, анапластической крупноклеточной лимфомы, Т-клеточной лимфомы, и предшественника Т-лимфобластной лимфомы, и любую их комбинацию.

6. Способ по любому одному из п.п. 1-5, в котором злокачественная опухоль представляет собой рак желудка или рак гастроэзофагеального перехода.

7. Способ по п. 6, в котором рак желудка представляет собой аденокарциному, лимфому, желудочно-кишечную стромальную опухоль или карциноидную опухоль.

8. Способ по любому одному из п.п. 1-5, в котором злокачественная опухоль выбирается из меланомы, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), опухоли, связанной с вирусом папилломы человека (HPV), рака мочевого пузыря, плоскоклеточного рака головы и шеи, почечноклеточного рака и аденокарциномы желудка.

9. Способ по любому одному из п.п. 1-8, в котором антагонистом LAG-3 является антитело к LAG-3.

10. Способ по п. 9, в котором антитело к LAG-3 представляет собой полноразмерное антитело.

11. Способ по п. 10, в котором антитело представляет собой моноклональное, человеческое, гуманизированное, химерное или мультиспецифическое антитело.

12. Способ по п. 11, в котором мультиспецифическое антитело представляет собой переориентирующееся антитело с двойной аффинностью (DART), DVD-Ig или биспецифическое антитело.

13. Способ по п. 9, в котором антитело представляет собой фрагмент F(ab')₂, фрагмент Fab', фрагмент Fab, фрагмент Fv, фрагмент scFv, фрагмент dsFv, фрагмент dAb или одноцепочечный связывающий полипептид.
14. Способ по п. 9, в котором антитело к LAG-3 представляет собой BMS-986016, IMP731 (H5L7BW), MK-4280 (28G-10), REGN3767, GSK2831781, гуманизированное BAP050, IMP-701 (LAG-5250), aLAG3(0414), aLAG3(0416), Sym022, TSR-033, TSR-075, XmAb22841, BI 754111, MGD013, AVA-017, P 13B02-30 или FS-118.
15. Способ по любому одному из п.п. 1-8, в котором антагонист LAG-3 представляет собой IMP321.
16. Способ по любому одному из п.п. 9-13, в котором антитело к LAG-3 содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5.
17. Способ по любому одному из п.п. 1-14, в котором антитело к LAG-3 содержит
- (a) CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:7;
 - (b) CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:8;
 - (c) CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:9;
 - (d) CDR1 вариабельной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:10;
 - (e) CDR2 вариабельной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:11; и
 - (f) CDR3 вариабельной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:12.
18. Способ по любому одному из п.п. 1-11, в котором антитело к LAG-3 содержит вариабельные области тяжелой и легкой цепей, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO:3 и 5 соответственно.
19. Способ по любому одному из п.п. 1-11, в котором антитело к LAG-3 содержит тяжелую и легкую цепи, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO:1 и 2 соответственно.

20. Способ по любому одному из пп. 1-19, в котором ингибитор пути PD-1 представляет собой антитело к PD-1 или к PD-L1.
21. Способ по п. 20, в котором антитело к PD-1 выбирается из группы, состоящей из: ниволумаба, пембролизумаба, пидилизумаба, PDR001, MEDI0680, TSR-042, REGN2810, JS001, PF-06801591, BGB-A317, BI 754091 и SHR-1210.
22. Способ по любому одному из п.п. 1-21, в котором антитело к PD-1 содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:17.
23. Способ по любому одному из пп. 1-21, в котором антитело к PD-1 содержит
- (a) CDR1 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:19;
 - (b) CDR2 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:20;
 - (c) CDR3 вариательной области тяжелой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:21;
 - (d) CDR1 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:22;
 - (e) CDR2 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:23; и
 - (f) CDR3 вариательной области легкой цепи, содержащую последовательность, указанную в SEQ ID NO:24.
24. Способ по любому из п.п. 1-23, в котором антитело к PD-1 содержит вариательные области тяжелой и легкой цепей, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO:15 и 17 соответственно.
25. Способ по любому из п.п. 1-21, в котором антитело к PD-1 содержит тяжелую и легкую цепи, содержащие последовательности, указанные в SEQ ID NO:13 и 14 соответственно.
26. Способ по любому из п.п. 1-25, в котором один или несколько химиотерапевтических агентов представляют собой соединения платины или фторпиримидины.

27. Способ по любому из п.п. 1-26, в котором один или несколько химиотерапевтических агентов представляют собой оксалиплатин, цисплатин, фторурацил, капецитабин, тегафур, гимерацил или отерацил.
28. Способ по п. 27, в котором одним или более химиотерапевтическими агентами являются оксалиплатин и капецитабин (XELOX).
29. Способ по п. 27, в котором одним или более химиотерапевтическими агентами являются оксалиплатин и фторурацил.
30. Способ по п. 27, в котором химиотерапевтические агенты дополнительно содержат химиопротекторный агент.
31. Способ по п. 30, в котором химиопротекторный агент представляет собой лейковорин.
32. Способ по п. 31, в котором один или более химиотерапевтических агентов включают оксалиплатин, лейковорин и фторурацил (FOLFOX).
33. Способ по п. 27, в котором один или несколько химиотерапевтических агентов представляют собой оксалиплатин и тегафур/гимерацил/отерацил калия (SOX).
34. Способ по любому из п.п. 1-33, в котором вводят комбинации фиксированных доз антитела к LAG-3 и антитела к PD-1.
35. Способ по п. 34, в котором фиксированную дозу определяют на основе химиотерапевтического агента, вводимого субъекту.
36. Способ по любому из п.п. 1-35, где способ включает по меньшей мере один цикл введения, причем цикл представляет собой период в шесть недель, и где для каждого из по меньшей мере одного цикла вводят две дозы антитела к LAG-3 в дозе 120 или 160 мг и вводят две дозы антитела к PD-1 в дозе 360 или 480 мг.
37. Способ по любому из п.п. 1-36, в котором вводят 120 мг антитела к LAG-3, 360 мг антитела к PD-1 и XELOX.
38. Способ по любому из п.п. 1-36, в котором вводят 160 мг антитела к LAG-3, 480 мг антитела к PD-1 и FOLFOX.

39. Способ по любому из п.п. 1-36, в котором вводят 120 мг антитела к LAG-3, 360 мг антитела к PD-1 и SOX.

40. Способ по любому из п.п. 1-39, в котором антитела к LAG-3 и к PD-1 составлены для внутривенного введения.

41. Способ по любому из п.п. 1-40, в котором антитела к LAG-3 и к PD-1 составлены вместе.

42. Способ по любому из п.п. 1-40, в котором антитела к LAG-3 и к PD-1 составлены отдельно.

43. Способ ингибирования роста аденокарциномы желудка или аденокарциномы гастроэзофагеального перехода у пациента-человека, включающий введение пациенту эффективного количества каждого из:

(а) антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5,

(b) антитела к PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:17, и

(с) одного или нескольких химиотерапевтических агентов, выбранных из группы, состоящей из оксалиплатина/капецитабина (XELOX), оксалиплатина/лейковорина/фторурацила (FOLFOX) и оксалиплатина/тегафура/гимерацила/отерацила (SOX),

где ассоциированные с опухолью иммунные клетки пациента экспрессируют LAG-3.

44. Способ лечения рака желудка или рака гастроэзофагеального перехода у пациента-человека, включающий введение пациенту эффективного количества:

(а) антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5,

(b) антитела к PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:17, и

(с) одного или нескольких химиотерапевтических агентов, выбранных из группы, состоящей из XELOX, FOLFOX и SOX.

45. Способ по п. 44, в котором ассоциированные с опухолью иммунные клетки пациента экспрессируют LAG-3.

46. Способ по п. 44 или п. 45, в котором способом лечат пациента, который не получал предшествующей терапии (напр., терапии первой линии).

47. Способ по п. 46, в котором предшествующая терапия представляет собой введение ингибитора HER2.

48. Способ по любому одному из п.п. 44-47, где способом лечат пациента, который является отрицательным по HER2.

49. Способ по любому одному из п.п. 44-48, в котором пациент не получал никакого предшествующего систематического лечения.

50. Способ по любому одному из п.п. 44-49, в котором антитело к LAG-3 и антитело к PD-1 вводят в виде комбинации фиксированных доз.

51. Способ по любому одному из п.п. 44-50, в котором рак желудка или рак гастроэзофагеального перехода является рецидивирующим, местнораспространенным или метастатическим раком желудка или гастроэзофагеальной аденокарциномой.

52. Способ по любому одному из п.п. 1-51, в котором экспрессию LAG-3 анализируют с помощью RT-PCR, гибридизации *in situ*, защиты РНКазы, анализа на основе RT-PCR, иммуногистохимии, иммуноферментного анализа, визуализации *in vivo* или проточной цитометрии.

53. Способ по п. 52, в котором экспрессию LAG-3 анализируют с помощью иммуногистохимии.

54. Способ лечения рака желудка или аденокарциномы гастроэзофагеального перехода у пациента-человека, включающий введение пациенту эффективного количества:

(а) антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5,

(b) антитела к PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:17, и

(c) одного или нескольких химиотерапевтических агентов.

55. Способ по п. 54, где способом лечат пациента, который не получал предшествующую терапию (напр., терапию первой линии).

56. Способ лечения рецидивирующего, местнораспространенного или метастатического рака желудка или аденокарциномы гастроэзофагеального перехода у пациента-человека, включающий введение пациенту эффективного количества:

(a) антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5, и

(b) одного или нескольких стандартных терапевтических режимов,

где ассоциированные с опухолью иммунные клетки пациента экспрессируют LAG-3.

57. Способ лечения рецидивирующего, местнораспространенного или метастатического рака желудка или аденокарциномы гастроэзофагеального перехода у пациента-человека, включающий введение пациенту эффективного количества:

(a) антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5, и

(b) антитела к PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:17, и

(c) одного или нескольких стандартных терапевтических режимов,

где ассоциированные с опухолью иммунные клетки пациента экспрессируют LAG-3.

58. Способ лечения рецидивирующего, местнораспространенного или метастатического рака желудка или аденокарциномы гастроэзофагеального перехода у пациента-человека, включающий введение пациенту эффективного количества:

(a) антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:3, и

домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:5, и

(b) антитела к PD-1, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:15, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:17, и

(c) одного или нескольких стандартных терапевтических режимов.

59. Способ по п. 57 или п. 58, в котором антитела к LAG-3 и к PD-1 вводят в виде комбинации фиксированных доз.

60. Способ по любому одному из п.п. 57-59, в котором один или нескольких стандартных терапевтических режимов включают введение доцетаксела, доксорубицина гидрохлорида, 5-фторурацила, митомицина C, фторурацила/лейковорина кальция (FULV), доцетаксела/цисплатина/фторурацила (TPF) или капецитабина/иринотекана гидрохлорида (XELIRI).

61. Способ по любому из п.п. 57-60, где способом лечат пациента, который получил предшествующую терапию (напр., в качестве терапии второй линии).

62. Способ по любому одному из п.п. 1-61, в котором антитело к LAG-3 представляет собой Релатлимаб.

63. Способ по любому одному из п.п. 1-62, в котором антитело к LAG-3 содержит мутацию серина в пролин в аминокислотном остатке 228.