

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202192596 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.02.14

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

(22) Дата подачи заявки
2020.03.26

(54) ПРОТИВОРАКОВАЯ КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ

(31) 19166375.6

(32) 2019.03.29

(33) EP

(86) PCT/EP2020/058513

(87) WO 2020/200997 2020.10.08

(71) Заявитель:
БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ
ИНТЕРНАЦИОНАЛЬ ГМБХ (DE)

(72) Изобретатель:
Цинцалла Виттория, Дробитс-Хандль
Барбара, Бауэр Маркус Йоханн (DE)

(74) Представитель:
Веселицкий М.Б., Веселицкая И.А.,
Кузенкова Н.В., Каксис Р.А., Белоусов
Ю.В., Куликов А.В., Кузнецова Е.В.,
Соколов Р.А., Кузнецова Т.В. (RU)

(57) В изобретении описаны противораковые терапии, включающие применение полипептида, способного специфически связываться с LRP5 и LRP6, в комбинации с антителом к PD1, каждый из них описан в настоящем изобретении.

A1

202192596

202192596

A1

ПРОТИВОРАКОВАЯ КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ

5 Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к комбинированной терапии для лечения злокачественного новообразования и к соединениям для применения в такой комбинированной терапии. Соединения для комбинации представляют собой
10 LRP5/6 антагонист и PD-1 антагонист.

Предпосылки создания изобретения

Активация сигнального пути Wnt требует связывания внеклеточных Wnt-лигандов с рецептором Frizzled и корецептором LRP5 (Номер доступа: UniProtKB -O75197 / LRP5_HUMAN) или его близкородственным гомологом
15 LRP6 (Номер доступа: UniProtKB - O75581 / LRP6_HUMAN). В клетках млекопитающих существует 19 белков Wnt и 10 рецепторов Frizzled. При отсутствии Wnt-лиганда цитоплазматический бета-катенин фосфорилируется белковым комплексом, состоящим из каркасных белков Axin и APC, а также киназ GSK3-бета и CK1a. Последующее распознавание бета-TrcP-убиквитин-лигазой приводит к убиквитин-опосредованной деградации бета-катенина. В
20 присутствии Wnt-лиганда связывание Wnt с Frizzled и LRP5 или LRP6 приводит к привлечению цитоплазматического эффекторного белка Dvl и фосфорилированию цитоплазматического хвоста LRP5 или LRP6, что обеспечивает сайт для присоединения Axin. Секвестрация Axin с помощью LRP5
25 или LRP6 приводит к инактивации комплекса Axin-APC-GSK3-бета, а значит, к стабилизации и накоплению внутриклеточного бета-катенина. Таким образом, уровень бета-катенина в цитоплазме растет, и бета-катенин перемещается к ядру, образуя комплексы с членами семейства факторов транскрипции Т-клеточного фактора (TCF)/Фактора, связывающегося с лимфоидным энхансером (LEF). Затем привлекается механизм базальной транскрипции и
30 транскрипционные коактиваторы, включая белок (CREB-binding protein, CBP), который связывается с белком, связывающимся с цАМФ-чувствительным элементом (cAMP response element-binding protein, CREB), либо его гомолог

p300, что приводит к экспрессии различных целевых генов, включая Axin2, циклин D1, Naked1, Notum и c-Myc.

Дополнительный уровень лиганд-зависимой регуляции пути Wnt опосредован E3-лигазой RNF43 и ее близкородственным гомологом ZNRF3, а также секретируемыми белками R-спондинами (de Lau и др. “The R-spondin/Lgr5/Rnf43 module: regulator of Wnt signal strength”. *Genes Dev.* 2014; 28(4):305-16). RNF43 является посредником в убиквитинировании рецепторного комплекса Frizzled/LRP5 или LRP6 на клеточной поверхности, приводя к его деградации и таким образом подавляя лиганд-зависимую активность пути Wnt. Активности RNF43 противодействуют члены семейства R-спондинов (R-спондиновые лиганды 1-4). При наличии R-спондинового лиганда он устраняет RNF43 с клеточной поверхности, делая возможным накопление комплекса Frizzled/LRP5 или LRP6 и усиление Wnt-передачи сигналов в присутствии Wnt-лигандов.

Гиперактивация сигнального пути Wnt вовлечена в патогенез различных, но не всех, типов злокачественных новообразований по меньшей мере двумя различными путями: при некоторых типах злокачественных новообразований частые мутации в молекулах нисходящих сигнальных путей способствуют конститутивной активации пути Wnt (например, APC мутации при раке толстой и прямой кишки; активирующая бета-катенин мутация при гепатоцеллюлярной карциноме), тогда как при других типах злокачественных новообразований, таких как, например, трижды негативный рак молочной железы (TNBC), немелкоклеточный рак легких (NSCLC), аденокарцинома поджелудочной железы и при подмножестве раков толстой и прямой кишки (CRC) и эндометриальных раков, активация сигнального пути Wnt приводится в действие лиганд-зависимым механизмом (то есть, путем аутокринной /паракринной активации Wnt), как определяют по внутриклеточному накоплению бета-катенина. При NSCLC, TNBC и аденокарциноме поджелудочной железы, лиганд-зависимая активация Wnt опосредована множеством механизмов, включая повышенную экспрессию Wnt лигандов и/или LRP5 и LRP6 рецепторов, или «молчанием» LRP5 и LRP6 отрицательного регулятора DKK1 (TNBC: Liu и др. “LRP6 overexpression defines a class of breast cancer subtype and is a target for therapy”. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107 (11):5136-41; Khramtsov и др. “Wnt/beta-catenin pathway activation is enriched in basal-like breast cancers and predicts poor

outcome". *Am J Pathol.* 2010; 176(6): 2911-20; NSCLC: Nakashima *и др.* "Wnt1 overexpression associated with tumor proliferation and a poor prognosis in non-small cell lung cancer patients". *Oncol Rep.* 2008; 19(1):203-9; Pancreatic cancer: Zhang *и др.* "Canonical wnt signaling is required for pancreatic carcinogenesis". *Cancer Res.* 2013; 73(15):4909-22). В особенности, опубликованные данные свидетельствуют о том, что в здоровых тканях (например, эпителии молочной железы и легких), бета-катенин локализован исключительно в плазматической мембране. В отличие от этого, большинство первичных клинических препаратов TNBC, NSCLC и аденокарциномы поджелудочной железы продемонстрировали внутриклеточное накопление бета-катенина (то есть в цитоплазме / ядре; биомаркер активации пути передачи сигналов Wnt), вследствие aberrантной передачи сигналов Wnt. В последних публикациях было показано, что лиганд-зависимая активация передачи сигналов Wnt опосредована мутированным / инактивированным RNF43 (Giannakis *и др.* "RNF43 is frequently mutated in colorectal and endometrial cancers". *Nat Genet.* 2014; 46(12):1264-6) или путем активации R-спондин слитых транскриптов (кодирующих белки R-спондин2 или R-спондин3, активируемые конститутивно активными сильными промоторами; Seshagiri *и др.* "Recurrent R-spondin fusions in colon cancer". *Nature* 2012; 488(7413):660-4) в подмножестве CRC и эндометриальных раков. Было показано, что как инактивирующие RNF43 мутации, так и R-спондин слитые транскрипты, оба усиливают лиганд-зависимую передачу сигналов Wnt в условиях *in vitro* путем увеличения численности Frizzled на клеточной поверхности. Было показано, что лиганд-зависимая активация Wnt в опухолях стимулирует рост опухоли и резистентность к химиотерапии или иммунотерапии, а также связана с рецидивами в доклинических моделях.

В связи с тем, что LRP5 и LRP6 действуют в качестве привратника лиганд-зависимой активации сигнального пути Wnt, они могут рассматриваться как мишени для достижения полной блокады пути, опосредуемого всеми 19-ю лигандами Wnt и 10-ю рецепторами Frizzled.

Альтернативным методом к вышеописанным подходам непосредственного нацеливания на злокачественное новообразование/клетки злокачественного новообразования является иммунотерапия злокачественного новообразования. Иммунотерапия злокачественного новообразования представляет собой направление онкологии, в котором иммунную систему используют для лечения

злокачественного новообразования, что кардинально отличается от существующих в настоящее время способов лечения, при которых опухоль непосредственно иссекают или лечат. Этот терапевтический подход основан на идентификации различных белков на поверхности Т-клеток, которые действуют

5 путем ингибирования иммунной функции этих клеток. Среди этих белков изучены PD-1 (Запрограммированная гибель клеток 1).

PD-1 представляет собой белок рецептора клеточной поверхности, экспрессируемый на Т-клетках. PD-1 имеет два лиганда, PD-L1 и PD-L2, которые взаимодействуют с рецептором клеточной поверхности. При

10 связывании лиганда, PD-1 индуцирует внутриклеточный сигнал, который отрицательно регулирует ответ Т-клеток. Таким образом, типично, белок функционирует в качестве ингибитора “контрольной точки иммунного ответа”, *то есть* он действует путем модуляции активности клеток в иммунной системе таким образом, что регулируются и ограничиваются аутоиммунные заболевания.

15 В последнее время было установлено, что различные злокачественные новообразования могут защищать себя от иммунной системы путем модификации ингибиторов “контрольной точки иммунного ответа” и таким образом избегать обнаружения.

Таким образом, также в различных исследованиях злокачественных

20 новообразований было показано, что молекулы антагонистического PD-1 антитела, такие как, например, ниволумаб и пембролизумаб, можно использовать для стимуляции иммунной системы и, таким образом, для лечения злокачественного новообразования.

Несмотря на вышеописанные преимущества для лечения злокачественного

25 новообразования, все еще существует потребность в новых терапевтических концепциях для лечения злокачественного новообразования, которые демонстрируют преимущества по сравнению со стандартными терапиями. Эти преимущества могут включать эффективность *in vivo* (*например*, улучшенный клинический ответ, выраженность ответа, увеличение скорости ответа,

30 продолжительность ответа, скорость стабилизации заболевания, продолжительность стабилизации, время до прогрессирования заболевания, выживаемость без прогрессирования заболевания (PFS) и/или общую выживаемость (OS), позднее проявление резистентности и другие), безопасное и хорошо переносимое введение и уменьшенную частоту и тяжесть

нежелательных явлений. Специфически, существует потребность в дополнительных возможностях лечения для пациентов со злокачественными новообразованиями, такими как, *например*, рак легких (*например*, NSCLC), меланома, злокачественные новообразования мочевого пузыря и желудочно-кишечного тракта.

Таким образом, задачей настоящего изобретения является обеспечение нового лечения злокачественного новообразования, которое обеспечивает преимущества по сравнению с лечениями /способами лечения, используемыми в настоящее время и/или известными из уровня техники.

Краткое изложение сущности изобретения

Настоящее изобретение обеспечивает способ лечения пациента с гиперпролиферативным заболеванием с применением LRP5/LRP6 антагониста (этот термин используется в настоящей заявке взаимозаменяемо с терминами “полипептид, который специфически связывается с LRP5 и LRP6” или “полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6”), совместно с антителом, которое специфично к запрограммированной гибели клеток 1 (PD-1) (этот термин используется в настоящей заявке взаимозаменяемо с терминами “анти PD-1 антитело”, “PD-1 антитело” или “PD-1 антагонист”), таким образом, оказывая противодействие пути передачи сигналов PD-1. Следовательно, настоящее изобретение обеспечивает комбинированную терапию, включающую LRP5/LRP6 антагонист и антитело к PD-1.

В одном аспекте, изобретение обеспечивает полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, где указанный способ включает введение полипептида, способного специфически связываться с LRP5 и LRP6, в комбинации с PD-1 антителом пациенту, который в этом нуждается, где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, выбирают из группы, включающей

- (I) полипептид, включающий первый одиночный вариабельный домен иммуноглобулина (ISVD) (a), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

5 CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(II) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

10 CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

15 CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(III) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

20 CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

25 CDR3: SPIPYGSLLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(IV) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

30 CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAAYEY (= SEQ ID NO:54);

(V) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

5 CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и
второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

10 и

(VI) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

15 CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и
второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

20 и где PD-1 антитело выбирают из группы, включающей

(I) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:1 (HCDR1), SEQ ID NO:2 (HCDR2) и SEQ ID NO:3 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:4 (LCDR1), SEQ ID NO:5 (LCDR2) и SEQ ID NO:6 (LCDR3);

25 (II) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:7 (HCDR1), SEQ ID NO:8 (HCDR2) и SEQ ID NO:9 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:10 (LCDR1), SEQ ID NO:11 (LCDR2) и SEQ ID NO:12 (LCDR3);

30

и

(III) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:13

(HCDR1), SEQ ID NO:14 (HCDR2) и SEQ ID NO:15 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:16 (LCDR1), SEQ ID NO:17 (LCDR2) и SEQ ID NO:18 (LCDR3).

5

В другом аспекте, изобретение обеспечивает способ лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, включающий введение пациенту, который в этом нуждается, терапевтически эффективного количества полипептида, способного специфически связываться с LRP5 и LRP6, и терапевтически эффективного количества PD-1 антитела, где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, выбирают из группы, включающей

10

(I) полипептид, включающий первый одиночный вариабельный домен иммуноглобулина (ISVD) (а), включающий следующие CDR последовательности:

15

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

20

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(II) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

25

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

30

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(III) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

5 CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(IV) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

10 CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

15 CDR3: DPRGYGVAYVSAAYEY (= SEQ ID NO:54);

(V) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

20 CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAAYEY (= SEQ ID NO:54);

25 и

(VI) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

30 CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAAYEY (= SEQ ID NO:54);

и где PD-1 антитело выбирают из группы, включающей

(I) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:1 (HCDR1), SEQ ID NO:2 (HCDR2) и SEQ ID NO:3 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:4 (LCDR1), SEQ ID NO:5 (LCDR2) и SEQ ID NO:6 (LCDR3);

(II) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:7 (HCDR1), SEQ ID NO:8 (HCDR2) и SEQ ID NO:9 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:10 (LCDR1), SEQ ID NO:11 (LCDR2) и SEQ ID NO:12 (LCDR3);

и

(III) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:13 (HCDR1), SEQ ID NO:14 (HCDR2) и SEQ ID NO:15 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:16 (LCDR1), SEQ ID NO:17 (LCDR2) и SEQ ID NO:18 (LCDR3).

В другом аспекте, изобретение обеспечивает PD-1 антитело для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, где способ включает введение PD-1 антитела в комбинации с полипептидом, способным специфически связываться с LRP5 и LRP6 пациенту, который в этом нуждается, где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, выбирают из группы, включающей

(I) полипептид, включающий первый одиночный варибельный домен иммуноглобулина (ISVD) (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(II) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(III) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(IV) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

(V) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и
второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

5 CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и

(VI) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

10 CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

15 CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и где PD-1 антитело выбирают из группы, включающей

(I) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:1 (HCDR1), SEQ ID NO:2 (HCDR2) и SEQ ID NO:3 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:4 (LCDR1), SEQ ID NO:5 (LCDR2) и SEQ ID NO:6 (LCDR3);

20 (II) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:7 (HCDR1), SEQ ID NO:8 (HCDR2) и SEQ ID NO:9 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:10 (LCDR1), SEQ ID NO:11 (LCDR2) и SEQ ID NO:12 (LCDR3);

и

30 (III) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:13 (HCDR1), SEQ ID NO:14 (HCDR2) и SEQ ID NO:15 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:16 (LCDR1), SEQ ID NO:17 (LCDR2) и SEQ ID NO:18 (LCDR3).

В другом аспекте, изобретение обеспечивает применение полипептида, способного специфически связываться с LRP5 и LRP6, для приготовления фармацевтической композиции для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, применяют в комбинации с PD-1 антителом, где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, выбирают из группы, включающей

(I) полипептид, включающий первый одиночный вариабельный домен иммуноглобулина (ISVD) (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(II) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(III) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(IV) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAAYEY (= SEQ ID NO:54);

(V) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAAYEY (= SEQ ID NO:54);

и

(VI) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAAYEY (= SEQ ID NO:54);

и где PD-1 антитело выбирают из группы, включающей

(I) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:1

(HCDR1), SEQ ID NO:2 (HCDR2) и SEQ ID NO:3 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:4 (LCDR1), SEQ ID NO:5 (LCDR2) и SEQ ID NO:6 (LCDR3);

(II) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:7 (HCDR1), SEQ ID NO:8 (HCDR2) и SEQ ID NO:9 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:10 (LCDR1), SEQ ID NO:11 (LCDR2) и SEQ ID NO:12 (LCDR3);

и

(III) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:13 (HCDR1), SEQ ID NO:14 (HCDR2) и SEQ ID NO:15 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:16 (LCDR1), SEQ ID NO:17 (LCDR2) и SEQ ID NO:18 (LCDR3).

В другом аспекте, изобретение обеспечивает применение PD-1 антитела для приготовления фармацевтической композиции для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, где PD-1-антитело применяют в комбинации с полипептидом, который способен специфически связываться с LRP5 и LRP6, выбранным из группы, включающей

(I) полипептид, включающий первый одиночный вариабельный домен иммуноглобулина (ISVD) (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(II) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

5 CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и
второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

10 (III) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

15 второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(IV) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

20 CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

25 CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

(V) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

30 CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и

(VI) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и где PD-1 антитело выбирают из группы, включающей

(I) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:1 (HCDR1), SEQ ID NO:2 (HCDR2) и SEQ ID NO:3 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:4 (LCDR1), SEQ ID NO:5 (LCDR2) и SEQ ID NO:6 (LCDR3);

(II) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:7 (HCDR1), SEQ ID NO:8 (HCDR2) и SEQ ID NO:9 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:10 (LCDR1), SEQ ID NO:11 (LCDR2) и SEQ ID NO:12 (LCDR3);

и

(III) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:13 (HCDR1), SEQ ID NO:14 (HCDR2) и SEQ ID NO:15 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:16 (LCDR1), SEQ ID NO:17 (LCDR2) и SEQ ID NO:18 (LCDR3).

В другом аспекте, изобретение обеспечивает фармацевтическую композицию, включающую:

- полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6;
- PD-1 антитело; и,
- необязательно, один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, наполнителей и/или вспомогательных веществ;

5 где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, выбирают из группы, включающей

(I) полипептид, включающий первый одиночный вариабельный домен иммуноглобулина (ISVD) (а), включающий следующие CDR последовательности:

10 CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

15 CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(II) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

20 CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

25 CDR3: SPIPYGSLLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(III) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

30 CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(IV) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

5 CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и
второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

10 (V) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

15 второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и

20 (VI) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

25 второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и где PD-1 антитело выбирают из группы, включающей

30 (I) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:1 (HCDR1), SEQ ID NO:2 (HCDR2) и SEQ ID NO:3 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:4 (LCDR1), SEQ ID NO:5 (LCDR2) и SEQ ID NO:6 (LCDR3);

(II) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:7 (HCDR1), SEQ ID NO:8 (HCDR2) и SEQ ID NO:9 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:10 (LCDR1), SEQ ID NO:11 (LCDR2) и SEQ ID NO:12 (LCDR3);

и

(III) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:13 (HCDR1), SEQ ID NO:14 (HCDR2) и SEQ ID NO:15 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:16 (LCDR1), SEQ ID NO:17 (LCDR2) и SEQ ID NO:18 (LCDR3).

В других вариантах осуществления, фармацевтическая композиция предназначена для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования.

В другом аспекте, изобретение обеспечивает набор, включающий в одном или нескольких контейнерах

- первую фармацевтическую композицию или дозированную форму, включающую полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, и, необязательно, один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, наполнителей и/или вспомогательных веществ;
- вторую фармацевтическую композицию или дозированную форму, включающую PD-1 антитело и, необязательно, один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, наполнителей и/или вспомогательных веществ; и
- необязательно листок-вкладыш в упаковке, включающий напечатанные инструкции;

где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, выбирают из группы, включающей

(I) полипептид, включающий первый одиночный вариабельный домен иммуноглобулина (ISVD) (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

5 CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и
второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

10 CDR3: SPIPYGSLLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(II) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

15 CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и
второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

20 (III) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

25 второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(IV) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

30 CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

(V) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTTYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и

(VI) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и где PD-1 антитело выбирают из группы, включающей

(I) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:1 (HCDR1), SEQ ID NO:2 (HCDR2) и SEQ ID NO:3 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:4 (LCDR1), SEQ ID NO:5 (LCDR2) и SEQ ID NO:6 (LCDR3);

(II) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:7 (HCDR1), SEQ ID NO:8 (HCDR2) и SEQ ID NO:9 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:10 (LCDR1), SEQ ID NO:11 (LCDR2) и SEQ ID NO:12 (LCDR3);

и

(III) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:13 (HCDR1), SEQ ID NO:14 (HCDR2) и SEQ ID NO:15 (HCDR3), и CDR легкой

5 цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:16 (LCDR1), SEQ ID NO:17 (LCDR2) и SEQ ID NO:18 (LCDR3).

В других вариантах осуществления, набор в соответствии с изобретением

10 предназначен для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования.

В предпочтительных вариантах осуществления изобретения полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, выбирают из группы,

15 включающей

(I) полипептид, включающий первый ISVD, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:58, и второй ISVD, включающий последовательность, представленную в SEQ ID NO:61;

(II) полипептид, включающий первый ISVG, включающий аминокислотную

20 последовательность, представленную в SEQ ID NO:59, и второй ISVD, включающий последовательность, представленную в SEQ ID NO:61;

(III) полипептид, включающий первый ISVD, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:60, и второй ISVD, включающий последовательность, представленную в SEQ ID NO:61;

(IV) полипептид, включающий первый ISVD, включающий аминокислотную

25 последовательность, представленную в SEQ ID NO:58, и второй ISVD, включающий последовательность, представленную в SEQ ID NO:62;

(V) полипептид, включающий первый ISVD, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:59, и второй ISVD,

30 включающий последовательность, представленную в SEQ ID NO:62; и

(VI) полипептид, включающий первый ISVD, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:60, и второй ISVD, включающий последовательность, представленную в SEQ ID NO:62;

предпочтительно, где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, дополнительно включает Alb11 домен, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:63.

В особенно предпочтительных вариантах осуществления изобретения, полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, включает полипептид, включающий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, включающей SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO:65 и SEQ ID NO:66.

В предпочтительных вариантах осуществления изобретения, антитело к PD1 выбирают из группы, включающей

- (I) антитело, имеющее переменный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:19, и переменный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:20;
- (II) антитело, имеющее переменный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:21, и переменный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:22;
- (III) антитело, имеющее переменный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:23, и переменный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:24;
- (IV) антитело, имеющее переменный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:25, и переменный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:26; и
- (V) антитело, имеющее переменный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:27, и переменный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:28.

В особенно предпочтительных вариантах осуществления изобретения, PD-1 антитело выбирают из группы, включающей

- (I) антитело, включающее тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29 и легкую цепь,

включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 30;

(II) антитело, включающее тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 31 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 32;

(III) антитело, включающее тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 33 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 34;

(IV) антитело, включающее тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 35 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 36; и

(V) антитело, включающее тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 37 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 38.

В других вариантах осуществления изобретения, PD-1 антитело вводят одновременно, конкурентно, последовательно, одно за другим, попеременно или отдельно с полипептидом, способным специфически связываться с LRP5 и LRP6.

В предпочтительных вариантах осуществления, полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, и PD-1 антитело вводят в соответствии со следующей схемой лечения:

(I) первый период лечения, где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, и PD-1 антитело вводят одновременно или конкурентно, предпочтительно один раз в три или четыре недели; и

(II) второй период лечения, где вводят только PD-1 антитело, а полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, не вводят, предпочтительно, где PD-1 антитело вводят один раз в три или четыре недели.

В предпочтительных вариантах осуществления изобретения, гиперпролиферативное заболевание, подвергнутое лечению, представляет собой злокачественное новообразование, выбранное из группы, включающей

злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомные опухоли, рак мочевого пузыря и рак легких (*например*, NSCLC), еще более предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой резистентное к иммунотерапии злокачественное новообразование желудочно-кишечного тракта (включая, но не ограничиваясь только ими, рак пищевода (например, рак пищеводно-желудочного перехода), рак желудка, гепатоцеллюлярную карциному, рак жёлчных протоков (например, холангиокарциному), рак желчного пузыря, рак поджелудочной железы или рак толстой и прямой кишки (CRC)), резистентную к иммунотерапии меланому, резистентный к иммунотерапии рак мочевого пузыря или резистентный к иммунотерапии рак легких.

В альтернативных предпочтительных вариантах осуществления изобретения, гиперпролиферативное заболевание, подвергаемое лечению, представляет собой солидную опухоль, резистентную к иммунотерапии.

Краткое описание фигур

На **Фигуре 1А-1Н:** показана противоопухолевая активность иллюстративного LRP5/LRP6 антагониста в качестве монотерапии и в комбинации с иллюстративным антителом кPD-1, на подкожной сингенной мышинной модели, имеющей происхождение из клеточной линии рака молочной железы EMT6 у Balb/c мышей. Фигура 1А: Измерение объема опухоли в указанные дни после лечения с применением родственного по изотипу антитела; 1В: с применением LRP5/6 антагониста; 1С: с применением PD-1 антитела; и 1D: с применением LRP5/6 антагониста + PD-1 антител. Фигура 1Е: Измерение ответной реакции уменьшения размеров опухоли в указанные дни после лечения с применением родственного по изотипу антитела; 1F: с применением LRP5/6 антагониста; 1G: с применением PD-1 антитела; и 1Н: с применением LRP5/6 антагониста + PD-1 антител. Нумерация, указанная со *, показывает число мышей из общего количества исследуемых мышей, у которых наблюдали ответную реакцию, то есть, у которых соотношение между объемом опухоли после окончания лечения и вначале лечения ниже 1 (то есть указывает на уменьшение объемов опухоли).

На **Фигуре 2** представлены инфильтрирующие опухоль CD8⁺ лимфоциты (% положительных клеток в общей площади опухоли), оцениваемые с помощью иммуногистохимического окрашивания препаратов опухоли в день 16 иллюстративного LRP5/LRP6 антагониста в качестве монотерапии и в комбинации с иллюстративным антителом к PD-1, на подкожной сингенной мышинной модели, имеющей происхождение из клеточной линии рака молочной железы EMT6 у Balb/c мышей.

Фигура 3А и 3В: Фигура 3А: показано, что активация пути передачи сигналов блокируется PBMC опосредствованным ингибированием жизнеспособности раковых клеток, что восстанавливается путем лечения с применением LRP5/LRP6 антагониста. **Фигура 3В:** демонстрирует, что комбинация LRP5/LRP6 антагониста и антитела к PD-1 человека приводит к усилению PBMC-опосредованной гибели опухолевых клеток, по сравнению с монотерапией с применением LRP5/LRP6 антагониста, в анализе совместного культивирования *in vitro* с опухолевыми клетками (NCI-H1437 клеточная линия немелкоклеточного рака легких) и PBMC человека. NCI-H1437 клетки стабильно трансфектировали для экспрессии красного флуоресцентного белка (mKate2) и культивировали в 3D в виде сфероидов. Wnt3a (1 мкг/мл), LRP5/LRP6 антагонист (LRP5/6; 1000 нМ), антитело к PD-1 человека (PD1; 200 нМ) и изотипный контроль антитела к PD-1 (изо; 200 нМ) добавляли в 0 часов. Активированные PBMC человека (предварительное лечение с применением анти-CD3/CD28 агонистов в течение 72 часов) добавляли к опухолевым клеткам в 0 часов. Жизнеспособность опухолевых клеток измеряли в виде флуоресцентного сигнала (mKate2 ОЕФ) в указанные временные точки (дни).

Подробное описание изобретения

Определения

Вышеописанные и другие аспекты и варианты осуществления изобретения будут ясны из приведенного далее описания, в котором:

Если не указано или не определено иное, то все использованные термины имеют обычное для данной области значение, которое очевидно специалисту в данной области техники, к которой относится настоящее изобретение. В случае конфликта, будет иметь преимущество описание патентной заявки, включая определения. Например, настоящим ссылаемся на стандартные пособия, такие

как Sambrook и др., "Molecular Cloning: A Laboratory Manual" (2-е изд.), Т. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989); Lewin, "Genes IV", Oxford University Press, New York, (1990), и Roitt и др., "Immunology" (2-е изд.), Gower Medical Publishing, London, New York (1989), а также на процитированные здесь
 5 документы общего уровня техники. Кроме того, если не указано иное, все способы, этапы, методики и манипуляции, конкретные детали которых не описаны, могут быть выполнены и выполнялись известным *per se* способом, что будет ясно специалисту. Для примера опять-таки ссылаемся на стандартные пособия, процитированные здесь документы общего уровня техники и
 10 дальнейшие упоминаемые документы.

Термин "антитело" охватывает антитела, фрагменты антител, антитело-подобные молекулы и конъюгаты любых из указанных выше структур. Антитела включают, но не ограничиваясь только ими, поли- или моноклональные, химерные, гуманизированные, человеческие, моно-, би- или
 15 мультиспецифические антитела. Термин "антитело" будет охватывать полные иммуноглобулины, как они продуцируются лимфоцитами, и например, присутствуют в сыворотке крови, моноклональные антитела, секретируемые гибридомными клеточными линиями, полипептиды, продуцируемые рекомбинантной экспрессией в клетках-хозяевах, которые имеют связывающую
 20 специфичность иммуноглобулинов или моноклональных антител, и молекулы, которые имеют происхождение из таких иммуноглобулинов, моноклональных антител, или полипептидов путем дальнейшего процессинга, сохраняя при этом их связывающую специфичность. В особенности, термин "антитело" включает полные иммуноглобулины, включающие две тяжелые цепи и две легкие цепи. В
 25 другом варианте осуществления, термин охватывает фрагмент иммуноглобулина, такой как Fab фрагменты. В другом варианте осуществления, термин "антитело" охватывает полипептид, имеющий один или несколько переменных доменов, имеющих происхождение из иммуноглобулина, такие как одноцепочечные антитела (scFv), однодоменные антитела, и другие.

30 "Антитело человека" представляет собой антитело, которое имеет аминокислотную последовательность, соответствующую последовательности антитела, продуцируемого клеткой человека или имеющего происхождение из источника, отличающегося от человека, который использует репертуар антител человека или других последовательностей, кодирующих антитело человека. Это

определение антитела человека специфически исключает гуманизированное антитело, содержащее нечеловеческие антигенсвязывающие остатки.

Термин “рекомбинантное антитело человека”, как используется в настоящей заявке, охватывает все антитела человека, которые приготовлены, экспрессированы, созданы или выделены с помощью рекомбинантных методов, такие как антитела, выделенные из клетки-хозяина, такой как NS0 или CHO клетка, или из животного (например, мыши), которая трансгенна для генов иммуноглобулина человека, или антитела, экспрессированные с помощью рекомбинантного экспрессионного вектора, трансфектированного в клетку-хозяин. Такие рекомбинантные антитела человека имеют варианты и константные области в перекомпонованной форме. Рекомбинантные антитела человека в соответствии с изобретением были подвержены соматической гипермутации в условиях *in vivo*. Таким образом, аминокислотные последовательности VH и VL участков рекомбинантных антител представляют собой последовательности, которые, несмотря на то, что имеют происхождение из и родственны VH и VL последовательностям зародышевой линии человека, могут не существовать в природе в репертуаре антител зародышевой линии человека в условиях *in vivo*.

“Гуманизированное” антитело относится к химерному антителу, содержащему аминокислотные остатки из нечеловеческих гипервариабельных участков (HVR) и аминокислотные остатки из каркасных участков (FR) человека. В определенных вариантах осуществления, гуманизированное антитело будет содержать по существу все из по меньшей мере одного, и типично двух, вариабельных доменов, в которых все или по существу все из HVR (например, участки, определяющие комплементарность (CDR)) соответствуют таким участкам нечеловеческого антитела, и все или по существу полные каркасные участки (FR) соответствуют таковым участкам антитела человека. Гуманизированное антитело необязательно может содержать по меньшей мере часть константной области антитела, имеющей происхождение из антитела человека. “Гуманизированная форма” антитела, например, нечеловеческого антитела, относится к антителу, которое было подвергнуто гуманизации.

Выражения “вариабельный домен” или “вариабельный участок” или Fv, как используется в настоящей заявке, обозначает каждую из пары легких и тяжелых

цепей, которая непосредственно задействована в связывании антитела с антигеном. Варибельный домен легкой цепи сокращенно обозначается как “VL” и варибельный домен тяжелой цепи сокращенно обозначается как “VH”. Варибельные домены легкой и тяжелой цепи имеют такую же общую структуру и каждый домен включает четыре каркасные (FR) участки, последовательности которых в значительной степени консервативны, соединенные с помощью трех HVR (или CDR). Каркасные участки принимают бета-складчатую конформацию и CDR могут образовывать петли, соединяющие бета-складчатую структуру. CDR в каждой цепи удерживаются в их трехмерной структуре с помощью каркасных участков и образуют совместно с CDR из другой цепи антигенсвязывающий сайт. CDR участки тяжелой и легкой цепи антитела играют чрезвычайно важную роль в связывающей специфичности/аффинности антител в соответствии с изобретением и, следовательно, составляют дальнейший объект в соответствии с изобретением.

В контексте настоящего изобретения, ссылка на CDR по отношению к антителам (например, PD1 антителам) основана на определении Chothia (Chothia и Lesk, J. Mol. Biol. 1987, 196: 901–917), совместно с Kabat (E.A. Kabat, T.T. Wu, H. Bilofsky, M. Reid-Miller и H. Perry, Sequence of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda (1983)).

Если не указано иное, термины “иммуноглобулин” и “последовательность иммуноглобулина” – используются ли они для обозначения тяжелой цепи антитела либо же обычного 4-цепочечного антитела – использованы в качестве общих терминов, охватывающих полноразмерные антитела, их отдельные цепи, а также любые их части, домены или фрагменты (включая, но не ограничиваясь ими, антигенсвязывающие домены либо фрагменты, такие как VHH-домены или VH/VL-домены, соответственно). Кроме того, используемый здесь термин “последовательность” (например, в составе таких терминов, как “последовательность иммуноглобулина”, “последовательность антитела”, “последовательность (отдельного) варибельного домена”, “VHH-последовательность” или “последовательность белка”) следует в целом понимать как охватывающий и соответствующую аминокислотную последовательность, и кодирующие ее последовательности нуклеиновой кислоты или нуклеотидные последовательности, если только контекстом не подразумевается более ограниченное толкование;

Термин "домен" (полипептида или белка) здесь и далее обозначает складчатую белковую структуру, которая способна удерживать свою третичную структуру независимо от остального белка. Как правило, домены отвечают за отдельные функциональные свойства белков, и во многих случаях могут быть добавлены, удалены или перенесены на другой белок без потери функции остатка белка и/или домена.

Термин "домен иммуноглобулина" здесь и далее использован для обозначения глобулярного участка в цепи антитела (такой как, напр., цепь обычного 4-цепочечного антитела или тяжелой цепи антитела) либо же полипептида, который по сути состоит из такого глобулярного участка. Иммуноглобулиновые домены отличаются тем, что сохраняют характерную для молекул антител иммуноглобулиновую укладку, представляющую собой 2-слойный "сэндвич" из примерно семи антипараллельных бета-нитей, уложенных в два бета-листа, необязательно стабилизированные консервативной дисульфидной связью.

Термин "вариабельный домен иммуноглобулина" здесь и далее обозначает иммуноглобулиновый домен, состоящий по сути из четырех "каркасных участков", которые здесь и в документах уровня техники обозначаются как "каркасный участок 1" или "FR1"; "каркасный участок 2" или "FR2"; "каркасный участок 3" или "FR3"; и "каркасный участок 4" или "FR4", соответственно; эти каркасные участки перемежаются тремя "участками, определяющими комплементарность" или "CDR", которые здесь и в документах уровня техники обозначаются как "определяющий комплементарность участок 1" или "CDR1"; "определяющий комплементарность участок 2" или "CDR2"; и "определяющий комплементарность участок 3" или "CDR3", соответственно. Таким образом, общую структуру или последовательность иммуноглобулинового вариабельного домена можно отобразить в следующем виде: FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4. Именно иммуноглобулиновый вариабельный домен(-ы) придает антителу специфичность по антигену, поскольку на нем находится антигенсвязывающий участок.

Термин "одиночный вариабельный домен иммуноглобулина" (или ISVD) здесь и далее обозначает иммуноглобулиновый вариабельный домен, который способен специфично связываться с эпитопом антигена, не будучи спаренным с дополнительным вариабельным иммуноглобулиновым доменом. Одним из

примеров ISVD в контексте данного изобретения являются "доменные антитела", такие как ISVD VH и VL (VH-домены и VL-домены). Другим важным примером ISVD являются "VHH-домены" (или же просто VHH) верблюдовых, определение которым дано ниже.

В свете вышеизложенного определения антигенсвязывающий домен обычного 4-цепочечного антитела (такого, как молекула IgG, IgM, IgA, IgD или IgE; известны из уровня техники) или Fab-фрагмента, F(ab')₂-фрагмента, Fv-фрагмента, такого как дисульфидно сшитый Fv- или scFv-фрагмент, или диатела (все известны из уровня техники), происходящий от подобного обычного 4-цепочечного антитела, как правило, не будет считаться ISVD, так как в этих случаях связывание с соответствующим эпитопом антигена обычно не происходит при участии только одного (отдельного) иммуноглобулинового домена, но требует пары (объединенных) иммуноглобулиновых доменов, таких как переменные домены легкой и тяжелой цепи, т.е., пары VH-VL иммуноглобулиновых доменов, которые совместно связываются с эпитопом соответствующего антигена.

"VHH-домены", известные также как VHH, V_HH-домены, VHH-фрагменты антител и VHH-антитела, изначально были описаны как антигенсвязывающие иммуноглобулиновые (переменные) домены "тяжелоцепочечных антител" (т.е., "антител, не имеющих легких цепей"; Hamers-Casterman C, Atarhouch T, Muyldermans S, Robinson G, Hamers C, Songa EB, Bendahman N, Hamers R.: "Naturally occurring antibodies devoid of light chains"; Nature 363, 446-448 (1993)). Термин "VHH-домен" был выбран, чтобы отличать такие переменные домены от переменных доменов тяжелой цепи, имеющих в обычных 4-цепочечных антителах (которые здесь и далее обозначены как "V_H-домены" или "VH-домены") и от переменных доменов легкой цепи, имеющих в обычных 4-цепочечных антителах (которые здесь и далее обозначены как "V_L-домены" или "VL-домены"). VHH-домены способны специфично связываться с эпитопом без дополнительного антигенсвязывающего домена (в отличие от VH- или VL-доменов обычного 4-цепочечного антитела, в случае которого VL- и VH-домены распознают эпитоп совместно). VHH-домены являются малыми, устойчивыми и эффективными антигенраспознающими единицами, образованными отдельным иммуноглобулиновым доменом.

В контексте настоящего изобретения термины VHH-домен, VHH, V_HH-домен, VHH-фрагмент антитела, VHH-антитело, а также "Nanobody[®]" и "Nanobody[®]-домен" ("Nanobody" является торговой маркой компании Ablynx N.V.; Гент; Бельгия) применяются взаимозаменяемо и обозначают
 5 представителей ISVD (имеющих структуру FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 и специфично связывающихся с эпитопом, не нуждаясь для этого в присутствии второго иммуноглобулинового переменного домена), которые также можно отличить от VH-доменов по так называемым "отличительным остаткам" согласно определению в, напр., WO2009/109635, Фиг. 1.

10 Аминокислотные остатки VHH-домена нумеруют по общей системе нумерации V_H-доменов, разработанной Kabat *и др.* ("Sequence of proteins of immunological interest", US Public Health Services, NIH Бетесда, Мэриленд, Публикация № 91), согласно ее применению для VHH-доменов Верблюдовых, показанному, напр., на Фигуре 2 из Riechmann и Muyldermans, J. Immunol.
 15 Methods 231, 25-38 (1999). Согласно этой системе нумерации

- FR1 состоит из аминокислотных остатков в положениях 1-30,
- CDR1 состоит из аминокислотных остатков в положениях 31-35,
- FR2 состоит из аминокислотных остатков в положениях 36-49,
- CDR2 состоит из аминокислотных остатков в положениях 50-65,
- 20 - FR3 состоит из аминокислотных остатков в положениях 66-94,
- CDR3 состоит из аминокислотных остатков в положениях 95-102,
- FR4 состоит из аминокислотных остатков в положениях 103-113.

Однако следует отметить – и это хорошо известно для V_H-доменов и для VHH-доменов – что общее количество аминокислотных остатков в каждом CDR
 25 может различаться и, следовательно, может не соответствовать общему количеству аминокислотных остатков, предусмотренному нумерацией по Kabat (а именно, одно или более положений согласно нумерации по Kabat в реальной последовательности могут не быть заняты, либо же реальная последовательность может содержать больше аминокислотных остатков, чем предусмотрено
 30 системой Kabat). Это значит, что, несмотря на то, что нумерация аминокислотных остатков VHH домена основана согласно нумерации по Kabat, фактическая нумерация аминокислотных остатков в фактической последовательности может отличаться. Поскольку такой вид вариации хорошо известен в данной области техники, то соответствующая нумерация и

расположение каркасных участков и CDR в пределах такой последовательности могут быть определены квалифицированным специалистом в данной области техники без дополнительных усилий.

Из уровня техники известны альтернативные методы нумерации аминокислотных остатков V_H-доменов, которые могут аналогичным образом применяться и к V_{HH}-доменам. Тем не менее, если не указано иное, в настоящем описании, формуле и на фигурах по отношению к ISVD, раскрытым в настоящей заявке, используется нумерация по Kabat, примененная к V_{HH}-доменам согласно описанию выше.

Общее количество аминокислотных остатков в V_{HH}-домене, как правило, находится в диапазоне от 110 до 120, часто между 112 и 115. Следует, однако, отметить, что для описанных здесь целей могут подходить и более короткие и длинные последовательности.

Способы получения V_{HH}-доменов, связывающихся с конкретным антигеном или эпитопом, были описаны ранее, напр., в WO2006/040153 и WO2006/122786. V_{HH}-домены Верблюдовых можно "гуманизировать", заменив один или более аминокислотных остатков в аминокислотной последовательности оригинальной V_{HH}-последовательности одним или более аминокислотными остатками, находящимися в тех же положениях V_H-домена обычного 4-цепочечного антитела человека. Гуманизированный V_{HH}-домен может содержать одну или больше полностью человеческих последовательностей каркасных участков, а в еще более конкретном варианте осуществления может содержать человеческие последовательности каркасных участков, полученные из DP-29, DP-47, DP-51, или их части, необязательно скомбинированные с последовательностями J_H, такими как JH5.

Термины "*эпитоп*" и "*антигенная детерминанта*", которые могут использоваться взаимозаменяемо, обозначают часть макромолекулы, такой как полипептид, распознаваемую антигенсвязывающими молекулами, такими как обычные антитела или полипептиды согласно изобретению, а более конкретно – антигенсвязывающим участком этих молекул. Эпитопы определяют минимальный участок связывания иммуноглобулина и потому являются мишенью специфичности иммуноглобулина.

Часть антигенсвязывающей молекулы (такой, как обычное антитело или полипептид, раскрытое (ый) в настоящей заявке), которая распознает эпитоп, называют *паратопом*.

Термин "*бипаратопная*" (антиген-)связывающая молекула или "бипаратопный" полипептид здесь и далее обозначает полипептид, содержащий первый ISVD и второй ISVD согласно данному здесь определению, причем эти два переменных домена способны связываться с двумя разными эпитопами одного антигена, при этом один моноспецифичный иммуноглобулин, такой как, напр., обычное антитело или один ISVD, в нормальных условиях не связывается с обоими этими эпитопами одновременно. Бипаратопные полипептиды согласно изобретению состоят из переменных доменов с разными специфичностями по эпитопам и не содержат взаимно комплементарных пар переменных доменов, связывающихся с одним и тем же эпитопом. Поэтому они не конкурируют друг с другом за связывание с LRP5 или LRP6.

Полипептид (такой, как иммуноглобулин, антитело, ISVD либо в целом антигенсвязывающая молекула или ее фрагмент в общем понимании), способный "*связываться*", "*связываться с*", "*специфично связываться*" представляет собой "*способный специфично связываться с*", или "*специфично связываться с*", который "*обладает аффинностью к*" и/или "*специфичностью по*" определенному эпитопу, антигену или белку (либо по крайней мере одной его части, фрагменту или эпитопу), называют "*полипептидом к*" или "*полипептидом, направленным против*" указанного эпитопа, антигена или белка, либо же он является "*связывающей*" молекулой в отношении такого эпитопа, антигена или белка.

В целом термин "*специфичность*" относится к ряду различных типов антигенов или эпитопов, с которыми может связываться конкретная антигенсвязывающая молекула или антигенсвязывающий белок (такой, как иммуноглобулин, антитело, ISVD). Специфичность антигенсвязывающего белка можно определить на основании его аффинности и/или авидности. Аффинность, отображаемая равновесной константой диссоциации антигена и антигенсвязывающего белка (K_D), является мерой силы связывания эпитопа и антигенсвязывающего участка антигенсвязывающего белка: чем меньше значение K_D , тем больше сила связывания эпитопа и антигенсвязывающей молекулы (альтернативно аффинность можно выразить как константу

аффинности (K_A), которая является $1/K_D$). Как будет понятно специалисту (например, на основании дальнейшей информации из этого документа), аффинность можно определить известным *per se* способом, в зависимости от конкретного интересующего антигена. Авидность – это мера силы связывания антигенсвязывающей молекулы (такой, как иммуноглобулин, антитело, ISVD) с конкретным рассматриваемым антигеном. Авидность зависит как от аффинности эпитопа и его антигенсвязывающего участка на антигенсвязывающей молекуле, так и от количества соответствующих применимых сайтов связывания на антигенсвязывающей молекуле.

Как правило, антигенсвязывающие белки (такие, как полипептиды, способные специфически связываться с LRP5 и LRP6) имеют при связывании константу диссоциации (K_D) от $10E-5$ до $10E-14$ моль/литр (М) или меньше, предпочтительно от $10E-7$ до $10E-14$ моль/литр (М) или меньше, более предпочтительно от $10E-8$ до $10E-14$ моль/литр, еще более предпочтительно от $10E-11$ до $10E-13$ (измеренную, напр., анализом Kineхa; известен из уровня техники), и/или константу ассоциации (K_A) по меньшей мере $10E7$ ME-1, предпочтительно по меньшей мере $10E8$ ME-1, более предпочтительно по меньшей мере $10E9$ ME-1, такую как по меньшей мере $10E11$ ME-1. Любое значение K_D выше $10E-4$ М, как правило, считают указывающим на неспецифичное связывание. Предпочтительно антигенсвязывающий белок (такой, как полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6) связывается с желаемым антигеном с K_D меньшей, чем 500 нМ, предпочтительно меньшей, чем 200 нМ, более предпочтительно меньшей, чем 10 нМ, такой, как меньше 500 пМ. Специфичное связывание антигенсвязывающего белка с антигеном или эпитопом можно определить любым подходящим известным *per se* методом, включая, например, описанные здесь анализы, анализ Скэтчарда и/или анализы конкурентного связывания, такие, как радиоиммуноанализы (РИА), иммуноферментные анализы (ИФА) и сэндвич-анализы конкуренции, а также различные из варианты, известные *per se* из уровня техники.

Термин "перекрестнореактивный" по отношению к связывающим молекулам, способным связываться и с LRP5, и с LRP6 ("перекрестнореактивные по LRP5/LRP6") следует понимать как то, что такие связывающие молекулы могут специфично связываться с эпитопом, содержащимся в молекуле LRP5, а также альтернативно могут специфично

связываться с эпитопом, содержащимся в молекуле LRP6. Обычно такая перекрёстная реактивность может возникать в том случае, когда эпитопы различных белков, связанные такой связывающей молекулой, имеют сходную структуру и/или последовательность, например, представляют собой консервативные эпитопы, например, совместно используемые белками, относящимися к одному и тому же семейству белков (например, LRP5 и LRP6, относящиеся к семейству белков LRP).

Полипептиды, способные специфически связываться с LRP5 и LRP6 (также обозначаемые в настоящей заявке как LRP5/LRP6 антагонист(ы)), описанные в настоящей изобретении, имеют специфичность к LRP5, а также к LRP6, в том понимании, что они включают одиночные вариабельные домены иммуноглобулинов, специфически связывающиеся с эпитопами, находящимися в обеих этих молекулах (LRP5/LRP6 перекрестнореактивные связывающиеся молекулы). Они перекрестно не реагируют или по существу перекрестно не реагируют с эпитопом, который структурно сходный с эпитопами LRP5 и LRP6, или с несходной структурой.

При использовании в настоящей заявке термин “включающий” и его модификации, такие как “включает” и “содержит”, могут быть заменены термином “содержащий” или “охватывающий” или “имеющий.” Кроме того, термин “включающий” также в явной форме охватывает варианты осуществления изобретения “состоящие из” указанных элементов.

Комбинированная терапия

Задачей настоящего изобретения является обеспечение новых терапий для лечения или контроля различных гиперпролиферативных заболеваний, в особенности, различных злокачественных новообразований.

Изобретатели настоящего изобретения, неожиданно, обнаружили, что применение LRP5/LRP6 антагониста в комбинации с антителом к PD-1 (запрограммированная гибель клеток 1), имеет потенциал улучшать клинический исход по сравнению с применением LRP5/LRP6 антагониста или антитела к PD-1 отдельно.

Специфически, в доклинических исследованиях изобретатели тестировали иммуномодулирующую функцию и противоопухолевую активность LRP5/LRP6 антагониста либо отдельно или в комбинации с антителом к PD-1 (см. Пример 1

ниже). Полные ответы, как определяли с помощью гистопатологического анализа, и обширную инфильтрацию опухоли Т-клетками наблюдали только для комбинации LRP5/LRP6 антагониста с антителом к PD-1. FACS анализ опухолевых дренирующих лимфатических узлов дополнительно показал, что

5 лечение с применением этой комбинации приводит к увеличению количества активированных дендритных клеток (DC) в дренирующих лимфатических узлах. Как дополнительно показано в Примере 3 ниже, лечение с применением Wnt3a лиганда совместного культивирования опухолевых сфероидов и активированных PBMC человека приводит к существенной блокаде PBMC-опосредованного

10 ингибирования жизнеспособности опухолевых клеток. Лечение с применением LRP5/LRP6 антагониста совместного культивирования опухолевых сфероидов и активированных PBMC человек в присутствии Wnt3a, восстанавливает PBMC-опосредованное ингибирование жизнеспособности опухолевых клеток. Комбинированное лечение с применением LRP5/LRP6 антагониста и антитела к

15 PD1 человека, в соответствии с настоящим изобретением, приводит к усилению PBMC-опосредованной гибели опухолевых клеток, по сравнению с монотерапией с применением LRP5/LRP6 антагониста.

Не желая ограничиваться какой-либо теорией, эти сведения указывают на то, что комбинированное лечение с применением LRP5/LRP6 антагониста с

20 антителом к PD-1 приводит к ингибированию пути передачи сигналов Wnt в DC, что в результате приводит к повышенной регуляции провоспалительных цитокинов, восстановлению перекрестного примирования и способствованию инфильтрации опухоли Т-клетками и противоопухолевой активности.

Несмотря на то, что в данной области техники известны различные

25 комбинированные терапии и в настоящее время проводятся испытания (например, доклинические или клинические испытания), все еще отсутствуют удовлетворительные терапевтические концепции для лечения злокачественных заболеваний, в особенности солидных опухолей, таких как рак легких (например, NSCLC), меланома, злокачественные новообразования мочевого

30 пузыря и желудочно-кишечного тракта. Любая терапия, которая будет проявлять преимущества по сравнению со стандартными терапиями, такие как, например, лучший клинический исход, благоприятные эффекты, лучшая эффективность и/или улучшенная переносимость, такая как, например, уменьшенные побочные эффекты, следовательно, будет представлять собой важную разработку.

Неожиданные результаты, представленные в примерах ниже, указывают на то, что комбинация LRP5/LRP6 антагониста, которая самостоятельно не обладает терапевтическим эффектом на опухолевой модели, с антителом к PD-1, которое имеет только ограниченный терапевтический эффект, приводит к синергетическому (то есть превышающему аддитивное) взаимодействию этих двух соединений, что обеспечивает лучшие результаты в том, что достигают полного ответа.

Таким образом, изобретение относится к способам лечения и/или предотвращения гиперпролиферативных заболеваний, в особенности злокачественного новообразования, включающим комбинированное введение LRP5/LRP6 антагониста и антитела к PD-1, каждый из компонентов, как описано в данной заявке, а также к медицинским применениям, к применениям, к фармацевтическим композициям или комбинациям и наборам, содержащим такие терапевтические агенты.

Кроме того, изобретение относится к противораковым терапиям, включающим применение LRP5/LRP6 антагониста и антитела к PD-1, каждый из компонентов, как описано в данной заявке, в комбинации.

Такое комбинированное лечение может осуществляться в виде нефиксированной (*например*, свободной) комбинации компонентов или в форме фиксированной комбинация, включая наборы из частей.

Для лечения заболеваний онкологической природы, уже было предложено большое количество противораковых средств (включая мишенеспецифические и мишенеспецифические противораковые средства), которые можно применять в качестве монотерапии или в качестве комбинированной терапии, действующей более одного средства (*например*, терапия с применением двухкомпонентной или трехкомпонентной комбинации) и/или которую можно комбинировать с радиотерапией (*например*, воздействие облучением), радио-иммунотерапией и/или хирургией. Следовательно, комбинированное лечение, раскрытое в настоящей заявке, может осуществляться дополнительно к другим терапевтическим средствам и/или лечениям, таким как радиотерапия, радио-иммунотерапия и хирургия.

LRP5/LRP6 антагонист

Полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, (также в настоящей заявке обозначается как LRP5/LRP6 антагонист) в контексте настоящего изобретения и всех его вариантов осуществления представляет собой LRP5/LRP6 перекрестно-реагирующий бипаратопный полипептид, включающий

5 два или больше одиночных вариабельных домена иммуноглобулина, которые связываются с LRP5 и/или LRP6 в различных эпитопах. Термины “перекрестно-реагирующий” и “бипаратопный” были раскрыты выше, таким образом, что LRP5/LRP6 перекрестно-реагирующие бипаратопные молекулы могут быть

определены как молекулы, способные связываться с LRP5 в двух различных

10 эпитопах, содержащихся в LRP5 белке, а также способные связываться с LRP6 в соответствующих двух эпитопах, содержащихся в LRP6 белке.

Более специфически, указанный полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, включает:

- 15 - первый одиночный вариабельный домен иммуноглобулина, который способен специфически связываться с LRP5, а также с LRP6 (LRP5/LRP6 перекрестно-реагирующий) посредством эпитопа / таким образом, что это приводит к ингибированию пути передачи сигнала Wnt1, таким образом, что ингибируется транскрипция Wnt1- управляемого целевого гена, и
- 20 - второй одиночный вариабельный домен иммуноглобулина, который способен специфически связываться с LRP5, а также с LRP6 (LRP5/LRP6 перекрестно-реагирующий) посредством эпитопа / таким образом, что это приводит к ингибированию пути передачи сигнала Wnt3a, таким образом, что ингибируется транскрипция Wnt3a-управляемого целевого гена.

25 Благодаря тому, что два одиночные вариабельные домены иммуноглобулина присутствуют в таком полипептиде, где два домена связываются с различными эпитопами (связанные с передачей сигналов Wnt1 / Wnt3a), эти молекулы представляют собой бипаратопные связывающие молекулы. В этом контексте, следует отметить, что полагают, что LRP5/LRP6 антагонисты, описанные в

30 настоящей заявке, могут связываться с одной единичной LRP5 или LRP6 молекулой посредством обоих их LRP5/LRP6 связывающих доменов. Тем не менее, также может осуществляться другие режимы связывания.

В других вариантах осуществления изобретения, полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, включает

- первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

5 CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

- второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

10 CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51).

Эта специфическая комбинация CDR последовательностей содержится, например, в LRP5/LRP6 антагонисте, обозначаемом термином LRP5/LRP6#1 далее в настоящей заявке.

В других вариантах осуществления изобретения, полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, включает

- первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

20 - второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51).

Эта специфическая комбинация CDR последовательностей содержится, например, в LRP5/LRP6 антагонисте, обозначаемом термином LRP5/LRP6#2 далее в настоящей заявке.

В других вариантах осуществления изобретения, полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, включает

- первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

30 CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

- второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51).

Эта специфическая комбинация CDR последовательностей содержится, например, в LRP5/LRP6 антагонисте, обозначаемом термином LRP5/LRP6#3
5 далее в настоящей заявке.

В других вариантах осуществления изобретения, полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, включает

- первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

10 CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

- второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

15 CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54).

Эта специфическая комбинация CDR последовательностей содержится, например, в LRP5/LRP6 антагонисте, обозначаемом термином LRP5/LRP6#4
далее в настоящей заявке.

В других вариантах осуществления изобретения, полипептид, способный
20 специфически связываться с LRP5 и LRP6, включает

- первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

25 - второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54).

Эта специфическая комбинация CDR последовательностей содержится, например, в LRP5/LRP6 антагонисте, обозначаемом термином LRP5/LRP6#5
30 далее в настоящей заявке.

В других вариантах осуществления изобретения, полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, включает

- первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

- второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54).

Эта специфическая комбинация CDR последовательностей содержится, например, в LRP5/LRP6 антагонисте, обозначаемом термином LRP5/LRP6#6 далее в настоящей заявке.

Термины “первый” и “второй” по отношению к таким ISVD или доменам в целом, как используется в настоящей заявке, предназначены только для указания того, что эти домены представляют собой два различных домена (поскольку они по меньшей мере включают различные CDR последовательности). Таким образом, эти термины не должны пониматься как относящиеся к точному порядку или последовательности доменов в пределах такой полипептидной цепи. Другими словами, вышеописанные ISVD (а) и (б) могут быть расположены либо в порядке (а)-(б) или в порядке (б)-(а) в пределах полипептидов, описанных в настоящей заявке.

Термины “способный специфически связываться с LRP5 и LRP6” и “специфически связывается с LRP5 или LRP6” обозначают, что одиночные переменные домены иммуноглобулинов (а) и (б) перекрестно реагируют по отношению к LRP5 и LRP6. Разумеется, что связывающие свойства таких молекул определяются их (CDR) последовательностями, таким образом, что характерные признаки “способный специфически связываться с LRP5 и LRP6” и “специфически связывающийся с LRP5 или LRP6”, представленные выше и в пунктах формулы изобретения, предназначены только для иллюстрации полезности изобретения, и не ограничивают объем настоящего изобретения.

Специфически, ISVD полипептидов, описанных в настоящей заявке (например, ISVD, содержащие CDR последовательности, как определено выше), представляют собой VHH домены, предпочтительно гуманизированные VHH домены.

В других вариантах осуществления изобретения, полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, включает полипептид с первым ISVD (а) и вторым ISVD (б), указанный первый ISVD, включающий VHH домен с последовательностью, выбранной из группы, включающей SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59 и SEQ ID NO:60, и указанный второй ISVD, включающий VHH домен с последовательностью, выбранной из группы, включающей SEQ ID NO:61 и SEQ ID NO:62; где последовательности представлены ниже:

SEQ ID NO:58:

10 AVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSTYTVGWFRQAPGKEREFA
AIRRGSSSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA
DTRTVALLQYRYDYGWGQGLTLTVSS [= Wnt1-333E06mod домен]

SEQ ID NO:59:

15 AVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFSSYAMGWFRQAPGKEREFA
AIRSGRRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA
ARRVRSSTRYNTGTWWWEYWGQGLTLTVSS [= Wnt1-333G06 домен]

SEQ ID NO:60:

20 AVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGLTFSRYTMGWFRQAPGKEREFA
AIVRSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA
DRRGRGENYILLYSSGRYEYWGQGLTLTVSS [= Wnt1-332D03mod домен]

SEQ ID NO:61:

25 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFA
AISWSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA
SPIPYGSLLRRRNNDYWGQGLTLTVSS [= Wnt3a-093A01 домен], и

SEQ ID NO:62:

30 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFSSYAMGWFRQAPGKEREFA
AISWRSGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA
DPRGYGVAYVSAYYEYWGQGLTLTVSS [= Wnt3a-367B10 домен]

В других вариантах осуществления, первый ISVD включает последовательность, представленную в SEQ ID NO:58, и второй ISVD включает последовательность, представленную в SEQ ID NO:61 (LRP5/LRP6#1).

5 В других вариантах осуществления изобретения, первый ISVD включает последовательность, представленную в SEQ ID NO:59, и второй ISVD включает последовательность, представленную в SEQ ID NO:61 (LRP5/LRP6#2).

В других вариантах осуществления, первый ISVD включает последовательность, представленную в SEQ ID NO:60, и второй ISVD включает последовательность, представленную в SEQ ID NO:61 (LRP5/LRP6#3).

10 В других вариантах осуществления, первый ISVD включает последовательность, представленную в SEQ ID NO:58, и второй ISVD включает последовательность, представленную в SEQ ID NO:62 (LRP5/LRP6#4).

В других вариантах осуществления, первый ISVD включает последовательность, представленную в SEQ ID NO:59, и второй ISVD включает последовательность, представленную в SEQ ID NO:62 (LRP5/LRP6#5).

15 В других вариантах осуществления, первый ISVD включает последовательность, представленную в SEQ ID NO:60, и второй ISVD включает последовательность, представленную в SEQ ID NO:62 (LRP5/LRP6#6).

В предпочтительных вариантах осуществления изобретения, LRP5/LRP6 антагонист представляет собой любой из LRP5/LRP6#1, LRP5/LRP6#5 или LRP5/LRP6#6, как определено CDR и/или VHH последовательностями выше.

В соответствии с предпочтительным аспектом осуществления изобретения, LRP5/LRP6 антагонист включает полипептид с первым (а) LRP5/LRP6, который связывает ISVD, и вторым (б) LRP5/LRP6, который связывает ISVD, и третий ISVD (в). Предпочтительно, LRP5/LRP6 антагонист включает первый и второй ISVD, как определено CDR последовательностями выше, и третий ISVD, который непосредственно или опосредованно связывает первый и второй ISVD. В других вариантах осуществления, первый ISVD ковалентно связан с помощью пептидного линкера с третьим ISVD, который ковалентно связан со вторым ISVD с помощью пептидного линкера. Два линкера могут представлять собой идентичные или различные линкеры. Также охватывает вариант осуществления, когда присутствует только один линкер. Термины “первый” и “второй”, как указаны выше, не указывают их положение в пределах полипептида, следовательно, от N до C конца ISVD последовательности в пределах

25

30

полипептида могут быть расположены в любом порядке ISVD (a)-(в)-(б), (a)-[линкер]-(в)-[линкер]-(б), (б)-(в)-(a). (б)-[линкер]-(в)-[линкер]-(a), (a)-[линкер]-(в)-(б), (a)-(в)-[линкер]-(б), (б)-[линкер]-(в)-(a), (б)-(в)-[линкер]-(a).

Предпочтительно, третий ISVD (в) представляет собой альбуминсвязывающий ISVD. Неограничивающим примером такого альбуминсвязывающего ISVD является Alb11 домен, содержащий следующие CDR:

CDR(Alb11)1: SFGMS (= SEQ ID NO:55)

CDR(Alb11)2: SISGSGSDTLYADSVKG (= SEQ ID NO:56)

CDR(Alb11)3: GGSLSR (= SEQ ID NO:57).

Это приводит к группе предпочтительных LRP5/LRP6 антагонистов, имеющих следующую структуру:

FR(a)1 - CDR(a)1 - FR(a)2 - CDR(a)2 - FR(a)3 - CDR(a)3 - FR(a)4 - [необязательный линкерный пептид] - FR(Alb11)1 - CDR(Alb11)1 - FR(Alb11)2 - CDR(Alb11)2 - FR(Alb11)3 - CDR(Alb11)3 - FR(Alb11)4 - [необязательный линкерный пептид] - FR(б)1 - CDR(б)1 - FR(б)2 - CDR(б)2 - FR(б)3 - CDR(б)3 - FR(б)4, предпочтительно, где CDR включают последовательности, как представлено выше.

Кроме того, порядок трех ISVD (a), (б), и Alb11 не фиксирован, но полипептиды, в которых вышеуказанные домены расположены в порядке:

(б) – Alb11 – (a)

также могут охватываться изобретением. Также, полипептиды, имеющие Alb11 домен на N- или C-концевой области полипептида (например, Alb11 – (a) – (б), Alb11 – (б) – (a), (a) – (б) – Alb11, или (б) – (a) – Alb11), также охватываются объемом изобретения.

В других вариантах осуществления изобретения, полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, включает

- первый ISVD, включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42),

-второй ISVD, включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51), и

-альбуминсвязывающий ISVD (третий ISVD), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SFGMS (= SEQ ID NO:55)

5 CDR2: SISGSGSDTLYADSVKG (= SEQ ID NO:56)

CDR3: GGSLSR (= SEQ ID NO:57).

Эта специфическая комбинация CDR последовательностей содержится, например, в LRP5/LRP6 антагонисте, обозначаемом термином LRP5/LRP6#1 далее в настоящей заявке.

10 В других вариантах осуществления изобретения, полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, включает

- первый ISVD, включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

15 CDR3: ARRVRSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45),

-второй ISVD, включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51), и

20 -альбуминсвязывающий ISVD, включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SFGMS (= SEQ ID NO:55)

CDR2: SISGSGSDTLYADSVKG (= SEQ ID NO:56)

CDR3: GGSLSR (= SEQ ID NO:57).

25 Эта специфическая комбинация CDR последовательностей содержится, например, в LRP5/LRP6 антагонисте, обозначаемом термином LRP5/LRP6#2 далее в настоящей заявке.

В других вариантах осуществления изобретения, полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, включает

30 - первый ISVD, включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYDY (= SEQ ID NO:48),

-второй ISVD со следующими CDR последовательностями:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRRNNYDY (= SEQ ID NO:51), и

-альбуминсвязывающий ISVD, включающий следующие CDR

5 последовательности:

CDR1: SFGMS (= SEQ ID NO:55)

CDR2: SISGSGSDTLYADSVKG (= SEQ ID NO:56)

CDR3: GGSLSR (= SEQ ID NO:57).

Эта специфическая комбинация CDR последовательностей содержится,
10 например, в LRP5/LRP6 антагонисте, обозначаемом термином LRP5/LRP6#3
далее в настоящей заявке.

В других вариантах осуществления изобретения, полипептид, способный
специфически связываться с LRP5 и LRP6, включает

15 - первый ISVD, включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42),

-второй ISVD, включающий следующие CDR последовательности:

20 CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54), и

-альбуминсвязывающий ISVD, включающий следующие CDR

последовательности:

25 CDR1: SFGMS (= SEQ ID NO:55)

CDR2: SISGSGSDTLYADSVKG (= SEQ ID NO:56)

CDR3: GGSLSR (= SEQ ID NO:57).

Эта специфическая комбинация CDR последовательностей содержится,
например, в LRP5/LRP6 антагонисте, обозначаемом термином LRP5/LRP6#4
30 далее в настоящей заявке.

В других вариантах осуществления изобретения, полипептид, способный
специфически связываться с LRP5 и LRP6, включает

- первый ISVD, включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45),

-второй ISVD, включающий следующие CDR последовательности:

5 CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54), и

-альбуминсвязывающий ISVD, включающий следующие CDR последовательности:

10 CDR1: SFGMS (= SEQ ID NO:55)

CDR2: SISGSGSDTLYADSVKG (= SEQ ID NO:56)

CDR3: GGSLSR (= SEQ ID NO:57).

Эта специфическая комбинация CDR последовательностей содержится, например, в LRP5/LRP6 антагонисте, обозначаемом термином LRP5/LRP6#5
15 далее в настоящей заявке.

В других вариантах осуществления изобретения, полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, включает

- первый ISVD, включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

20 CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48),

-второй ISVD, включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

25 CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54), и

-альбуминсвязывающий ISVD, включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SFGMS (= SEQ ID NO:55)

CDR2: SISGSGSDTLYADSVKG (= SEQ ID NO:56)

30 CDR3: GGSLSR (= SEQ ID NO:57).

Эта специфическая комбинация CDR последовательностей содержится, например, в LRP5/LRP6 антагонисте, обозначаемом термином LRP5/LRP6#6
далее в настоящей заявке.

В других вариантах осуществления, ISVD, как определено их CDR последовательностями в вышеуказанных полипептидах, способные специфически связываться с LRP5 и LRP6, расположены таким образом, что альбуминсвязывающий ISVD непосредственно или опосредованно (например, с помощью (а) линкерного (ых) пептида (ов)) связывает первый и второй ISVD.

Последовательность, представленная в вышеуказанном Alb11 одиночном переменном домене иммуноглобулина, является следующей:

EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGS
 GSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLLYQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQG
 TLVTVSS (= Alb11 домен; = SEQ ID NO:63)

CDR последовательности, указанные выше, обобщены в Таблицах 1A, 1B, и 1C:

Таблица 1A: CDR последовательности одиночных переменных доменов иммуноглобулинов, препятствующих пути передачи сигналов Wnt1:

	Wnt1-333E06mod	Wnt1-333G06	Wnt1-332D03mod
CDR1	TYTVG (SEQ ID NO:40)	SYAMG (SEQ ID NO:43)	RYTMG (SEQ ID NO:46)
CDR2	AIRRRGSSTYYADSVKG (SEQ ID NO:41)	AIRRSGRRTYYADSVKG (SEQ ID NO:44)	AIVRSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:47)
CDR3	DTRTVALLQYRYDY (SEQ ID NO:42)	ARRVRSSTRYNTGTWWW EY (SEQ ID NO:45)	DRRGGRGENYILLYSSGRYDY (SEQ ID NO:48)

Таблица 1B: CDR последовательности одиночных переменных доменов иммуноглобулинов, препятствующих пути передачи сигналов Wnt3a:

	Wnt3a-093A01	Wnt3a-367B10
CDR1	SYAMG (SEQ ID NO:49)	SYAMG (SEQ ID NO:52)
CDR2	AISWSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:50)	AISWRSGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:53)
CDR3	SPIPYGSLRRRNNDY (SEQ ID NO:51)	DPRGYGVAYVSAYYEY (SEQ ID NO:54)

Таблица 1С: CDR последовательности одиночного варибельного домена иммуноглобулина, который связывается с сывороточным альбумином (Alb11 домен):

	Alb11 домен
CDR1	SFGMS (SEQ ID NO:55)
CDR2	SISGSGSDTLYADSVKG (SEQ ID NO:56)
CDR3	GGSLSR (SEQ ID NO:57)

- 5 Три предпочтительные LRP5/LRP6 антагониста, описанные в настоящей заявке, являются следующими:

Первый предпочтительный LRP5/LRP6 антагонист: Полипептиды, включающие

- первый (LRP5/LRP6 связывающий) ISVD, включающий аминокислотную последовательность, как представлено в SEQ ID NO:58;
- 10 - альбуминсвязывающий ISVD, включающий аминокислотную последовательность, как представлено в SEQ ID NO:63;
- второй (LRP5/LRP6 связывающий) ISVD, включающий аминокислотную последовательность, как представлено в SEQ ID NO:61;

либо в этом порядке, или порядок вышеуказанных трех доменов изменен.

- 15 Второй предпочтительный LRP5/LRP6 антагонист: Полипептиды, включающие

- первый (LRP5/LRP6 связывающий) ISVD, включающий аминокислотную последовательность, как представлено в SEQ ID NO:59;
- альбуминсвязывающий ISVD, включающий аминокислотную последовательность, как представлено в SEQ ID NO:63;
- 20 - второй (LRP5/LRP6 связывающий) ISVD, включающий аминокислотную последовательность, как представлено в SEQ ID NO:62;

либо в этом порядке, или порядок вышеуказанных трех доменов изменен.

Третий предпочтительный LRP5/LRP6 антагонист: Полипептиды, включающие

- первый (LRP5/LRP6 связывающий) ISVD, включающий аминокислотную последовательность, как представлено в SEQ ID NO:60;
- 25 - альбуминсвязывающий ISVD, включающий аминокислотную последовательность, как представлено в SEQ ID NO:63;

- второй (LRP5/LRP6 связывающий) ISVD, включающий аминокислотную последовательность, как представлено в SEQ ID NO:62;

либо в этом порядке, или порядок вышеуказанных трех доменов изменен.

В еще более специфических предпочтительных вариантах осуществления изобретения, альбуминсвязывающий ISVD расположен между двумя LRP5/LRP6 связывающими ISVD.

Последовательности VHH, указанные выше, обобщены в Таблицах 2А, 2В и 2С:

Таблица 2А: Последовательности одиночных переменных доменов иммуноглобулинов, препятствующих пути передачи сигналов Wnt1:

SEQ ID NO:	VHH последовательности
Wnt1-333E06mod SEQ ID NO:58	AVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSTYTVGWFRQAPGKEREFVA AIRRRGSSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA DTRTVALLQYRYDYWGQGLTVTVSS
Wnt1-333G06 SEQ ID NO:59	AVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVA AIRRSGRRTYYADSVKGRFTISRDN SKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA ARRVRSSTRYNTGTWWWEYWGQGLTVTVSS
Wnt1-332D03mod SEQ ID NO:60	AVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGLTFSTRYTMGWFRQAPGKEREFVA AIVRSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA DRRGGRGENYILLYSSGRYEWGQGLTVTVSS

10

Таблица 2В: Последовательности одиночных переменных доменов иммуноглобулинов, препятствующих пути передачи сигналов Wnt3a:

SEQ ID NO:	VHH последовательности
Wnt3a-093A01 SEQ ID NO:61	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVA AISWSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA SPIPYGSLLRRRNNDYWGQGLTVTVSS
Wnt3a-367B10 SEQ ID NO:62	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVA AISWRSGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA DPRGYGVAYVSAYYEWGQGLTVTVSS

Таблица 2С: Последовательность одиночного варибельного домена иммуноглобулина, который связывается с сывороточным альбумином (Alb11 домен):

SEQ ID NO:	VHH последовательности
Alb11	EVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGS
SEQ ID NO:63	GSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGT LVTVSS

- 5 В предпочтительных вариантах осуществления изобретения, LRP5/LRP6 антагонист включает последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 64, 65 и 66 (эти предпочтительные полипептиды, способные специфически связываться с LRP5 и LRP6, также в настоящем изобретении обозначаются как LRP5/LRP6#1, LRP5/LRP6#5 и LRP5/LRP6#6, соответственно), где точные аминокислотные
- 10 последовательности могут быть получены из Таблицы 2D ниже:

Таблица 2D: Последовательности трех специфических вариантов осуществления полипептидов, способных специфически связываться с LRP5 и LRP6

SEQ ID NO:	Аминокислотная последовательность (CDR последовательности подчеркнуты)
SEQ ID NO:64	AVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSTYTVGWFRQAPGKEREFAAIRR RGSSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAADTRTVALL QYRYDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SEVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQ GTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFAAISWSGGSTYYAD SVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAASPIPYGSLRRRNNYDY WGQGTTLVTVSSA
SEQ ID NO:65	AVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFSSYAMGWFRQAPGKEREFAAIRR SGRRTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAARRVRSST RYNTGTWWWEYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLE WVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGG SLSRSSQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFSSYAMGWFRQAPGKEREFAAISWRSG STYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAADPRGYGVAYVS AYYEYWGQGTTLVTVSSA
SEQ ID NO:66	AVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGLTFSRYTMGWFRQAPGKEREFAAIVR SGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAADRRGRGEN YILLYSSGRYEWYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGG SGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSFGMSWVRQAPGKGLEW VSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSL SRSSQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFSSYAMGWFRQAPGKEREFAAISWRSGS TYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAADPRGYGVAYVS AYYEYWGQGTTLVTVSSA

Приготовление и терапевтическое применение вышеуказанных полипептидов, способных специфически связываться с LRP5 и LRP6, раскрыто в WO2017/093478A1. В частности, этот документ обеспечивает достаточное раскрытие способа приготовления полипептидов, способных специфически связываться с LRP5 и LRP6, используемых в настоящем изобретении.

Антитело к PD-1

Антитело к PD-1 (также обозначаемое в настоящей заявке как “PD-1 антитело”) в контексте настоящего изобретения и во всех его вариантах осуществления представляет собой соединение, которое ингибирует взаимодействие PD-1 с его лигандом (ами). Предпочтительно, антитело к PD-1 представляет собой гуманизированное или полностью человеческое антитело к PD-1. Любое из этих антител может представлять собой рекомбинантное антитело человека.

Ген PD-1 кодирует трансмембранный белок I типа с молекулярным весом 55 кДа, который является частью суперсемейства генов Ig (Agata и др. (1996) Int Immunol. 8:765-72). Полную последовательность PD-1 можно найти по номеру доступа GenBank U64863. Несмотря на структурное сходство с CTLA-4, в PD-1 отсутствует MYPPY мотив (SEQ ID NO:39), который является важным для связывания B7-1 и B7-2.

PD-1 является ингибирующим представителем расширенного CD28/CTLA-4 семейства Т-клеточных регуляторов. Другие представители CD28 семейства включают CD28, CTLA-4, ICOS и BTLA. Предполагают, что PD-1 существует в качестве мономера, в котором отсутствует неспаренный цистеиновый остаток, характерный для других представителей семейства CD28. PD-1 экспрессируется на активированных В-клетках, Т-клетках и моноцитах (Okazaki и др. (2002) Curr Opin Immunol 14:391779-82; Bennett и др. (2003) J. Immunol. 170:711-8). Было идентифицировано два лиганда для PD-1, PD-L1 (B7-H1) и PD-L2 (B7-DC), которые, как было показано, понижающе регулируют активацию Т-клеток при связывании с PD-1 (Freeman и др. (2000) J. Exp. Med. 192:1027-34; Carter и др. (2002) Eur. J. Immunol. 32:634-43). Оба PD-L1 и PD-L2 представляют собой B7 гомологи, которые связываются с PD-1. PD-L1 широко распространен при различных злокачественных новообразованиях у людей (Dong и др. (2002) Nat. Med. 8:787-9).

PD-1 известен в качестве иммуноингибирующего белка, который отрицательно регулирует сигналы TCR (Ishida, Y. и др. (1992) EMBO J. 11:3887-3895; Blank, C. и др. (2006) Immunol. Immunother. 56(6):739-745). Взаимодействие между PD-1 и PD-L1 может функционировать в качестве контрольной точки иммунного ответа, что может приводить, например, к снижению инфильтрации опухолями лимфоцитами, снижению пролиферации, опосредованной Т-клеточными рецепторами, и/или к уклонению злокачественных клеток от иммунной системы (Dong и др. (2003) J. Mol. Med. 81:281-7; Blank и др. (2005) Cancer Immunol. Immunother. 54:307-314; Konishi и др. (2004) Clin. Cancer Res. 10:5094-100). Иммунная супрессия может быть реверсирована путем ингибирования местного взаимодействия PD-1 с PD-L1 или PD-L2; эффект является аддитивным, если также блокируется взаимодействие PD-1 с обоими PD-L1 и PD-L2 (Iwai и др. (2002) Proc. Nat'l. Acad. Sci USA 99:12293-7; Brown и др. (2003) J. Immunol. 170:1257-66).

В одном аспекте осуществления изобретения, антитело к PD-1 представляет собой любое из антител PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4 и PD1-5, определенных последовательностями, как представлено в Таблице 3, с помощью номеров SEQ ID, где VH представляет собой переменный домен тяжелой цепи, VL представляет собой переменный домен легкой цепи, HC представляет собой (полноразмерную) тяжелую цепь и LC представляет собой (полноразмерную) легкую цепь:

Таблица 3: SEQ ID NO из CDR, VH, VL, HC и LC последовательностей

Антитело к PD1	CDR Последовательности	VH Последовательности	VL Последовательности	HC Последовательности	LC Последовательности
PD1-1	1-6	19	20	29	30
PD1-2	7-12	21	22	31	32
PD1-3	13-18	23	24	33	34
PD1-4	13-18	25	26	35	36
PD1-5	13-18	27	28	37	38

и где аминокислотные последовательности (и названия последовательностей) номеров SEQ ID представлены в Таблице 4:

Таблица 4:

SEQ ID NO:	Название последовательности	Аминокислотная последовательность
1	PD1-1HCDR1	GFTFSASAMS
2	PD1-1HCDR2	YISGGGGDTYYSSSVKG
3	PD1-1HCDR3	HSNVNYYAMDY
4	PD1-1LCDR1	RASENIDTSGISFMN
5	PD1-1LCDR2	VASNQGS
6	PD1-1LCDR3	QQSKEVPWT
7	PD1-2HCDR1	GFTFSASAMS
8	PD1-2HCDR2	YISGGGGDTYYSSSVKG
9	PD1-2HCDR3	HSNPNNYYAMDY
10	PD1-2LCDR1	RASENIDTSGISFMN
11	PD1-2LCDR2	VASNQGS
12	PD1-2LCDR3	QQSKEVPWT
13	PD1-3HCDR1	GFTFSKSAMS
14	PD1-3HCDR2	YISGGGGDTYYSSSVKG
15	PD1-3HCDR3	HSNVNYYAMDY
16	PD1-3LCDR1	RASENIDVSGISFMN
17	PD1-3LCDR2	VASNQGS
18	PD1-3LCDR3	QQSKEVPWT
19	PD1VH1	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSASAMSW VRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNVNYYA MDYWGQGTLLTVSS
20	PD1VL1	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDTSGISFMN WYQQKPGQAPKLLIYVASNQGSVIPARFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKLEIK
21	PD1VH2	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSASAMSW VRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNPNNYYAM DYWGQGTLLTVSS
22	PD1VL2	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDTSGISFMN WYQQKPGQAPKLLIYVASNQGSVIPARFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKLEIK
23	PD1VH3	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSKSAMSW VRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNVNYYA MDYWGQGTLLTVSS
24	PD1VL3	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDVSGISFMN WYQQKPGQAPKLLIYVASNQGSVIPARFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKLEIK
25	PD1VH4	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSKSAMSW VRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNVNYYA MDYWGQGTLLTVSS
26	PD1VL4	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDVSGISFMN WYQQKPGQAPKLLIYVASNQGSVIPARFSGSGSGTDF

SEQ ID NO:	Название последовательности	Аминокислотная последовательность
		TLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKLEIK
27	PD1VH5	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSKAMS VRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNVNYA MDYWGQGTLLTVSS
28	PD1VL5	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDVSGISFMN WYQQKPGQAPKLLIYVASNQSGGIPARFSGSGGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKLEIK
29	PD1HC1	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSASAMS VRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNVNYA MDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSLRTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHN HYTQKSLSLSLG
30	PD1LC1	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDTSGISFMN WYQQKPGQAPKLLIYVASNQSGGIPARFSGSGGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
31	PD1HC2	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSASAMS VRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNPNYAM DYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKR VESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSLRTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSLG
32	PD1LC2	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDTSGISFMN WYQQKPGQAPKLLIYVASNQSGGIPARFSGSGGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
33	PD1HC3	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSKAMS VRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNVNYA MDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN

SEQ ID NO:	Название последовательности	Аминокислотная последовательность
		NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSLG
34	PD1LC3	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDVSGISFMN WYQQKPGQAPKLLIYVASNQGSIGIPARFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKIDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
35	PD1HC4	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSKSAMSW VRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNVNYYA MDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSLG
36	PD1LC4	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDVSGISFMN WYQQKPGQAPKLLIYVASNQGSIGIPARFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKIDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
37	PD1HC5	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSKSAMSW VRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNVNYYA MDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSLG
38	PD1LC5	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDVSGISFMN WYQQKPGQAPKLLIYVASNQGSIGIPARFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKIDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Специфически, молекула антитела к PD-1, описанная в настоящей заявке, включает: (а) CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:1 (HCDR1), SEQ ID NO:2

(HCDR2) и SEQ ID NO:3 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:4 (LCDR1), SEQ ID NO:5 (LCDR2) и SEQ ID NO:6 (LCDR3); или, б) CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:7 (HCDR1), SEQ ID NO:8 (HCDR2) и SEQ ID NO:9 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:10 (LCDR1), SEQ ID NO:11 (LCDR2) и SEQ ID NO:12 (LCDR3); или (в) CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:13 (HCDR1), SEQ ID NO:14 (HCDR2) и SEQ ID NO:15 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:16 (LCDR1), SEQ ID NO:17 (LCDR2) и SEQ ID NO:18 (LCDR3).

В других вариантах осуществления, молекула антитела к PD-1 включает переменный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 19, 21, 23, 25 и 27.

В других вариантах осуществления, молекула антитела к PD-1 включает переменный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 20, 22, 24, 26 и 28.

В других вариантах осуществления, молекула антитела к PD-1 включает (а) переменный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 19, и переменный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 20, (б) переменный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 21, и переменный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 22, (в) переменный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 23, и переменный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 24, (д) переменный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 25, и переменный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 26, или (е) переменный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID

NO: 27, и вариабельный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 28.

В других вариантах осуществления, антитело к PD-1 включает (а) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 30, (б) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 31, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 32, (в) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 33, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 34, (d) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 35, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 36, или (е) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 37, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 38.

В предпочтительном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой PD1-1.

В предпочтительном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой PD1-2.

В предпочтительном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой PD1-3.

В предпочтительном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой PD1-4.

В предпочтительном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой PD1-5.

В одном аспекте осуществления, изобретение обеспечивает способ лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, включающий введение пациенту, который в этом нуждается, терапевтически эффективного количества LRP5/LRP6 антагониста (например, любого из LRP5/LRP6#1, LRP5/LRP6#2, LRP5/LRP6#3, LRP5/LRP6#4, LRP5/LRP6#5, LRP5/LRP6#6, как определено CDR и/или VHH

последовательностями из Таблиц 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c) и терапевтически эффективного количества антитела к PD-1 (например, любого из PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5, как определено CDR и/или VH/VL последовательностями из Таблиц 3 и 4). В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 30. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 31 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 32. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 33 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 34.

В другом аспекте изобретение обеспечивает комбинацию LRP5/LRP6 антагониста (например, любого из LRP5/LRP6#1, LRP5/LRP6#2, LRP5/LRP6#3, LRP5/LRP6#4, LRP5/LRP6#5, LRP5/LRP6#6, как определено CDR и/или VHH последовательностями из Таблиц 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c) и антитела к PD-1, как описано в настоящей заявке (например, любого из PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5, как определено CDR и/или VH/VL последовательностями из Таблиц 3 и 4), в особенности для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, где указанный способ включает введение терапевтически эффективного количества комбинации пациенту, который в этом нуждается. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь,

включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 30. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 31 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 32. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 33 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 34.

В другом аспекте изобретение относится к LRP5/LRP6 антагонисту (например, любого из LRP5/LRP6#1, LRP5/LRP6#2, LRP5/LRP6#3, LRP5/LRP6#4, LRP5/LRP6#5, LRP5/LRP6#6, как определено CDR и/или VHH последовательностями из Таблиц 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c) для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, где указанный способ включает, что терапевтически эффективное количество LRP5/LRP6 антагониста в комбинации с антителом к PD-1, как описано в настоящей заявке (например, любого из PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5, как определено CDR и/или VH/VL последовательностями из Таблиц 3 и 4) вводят пациенту, который в этом нуждается. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 30. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую

аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 31 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 32. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 33 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 34.

В другом аспекте изобретение относится к антителу к PD-1, как описано в настоящей заявке (например, любого из PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5, как определено CDR и/или VH/VL последовательностями из Таблиц 3 и 4) для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, где указанный способ включает, что терапевтически эффективное количество антитела к PD-1 в комбинации с LRP5/LRP6 антагонист (например, любого из LRP5/LRP6#1, LRP5/LRP6#2, LRP5/LRP6#3, LRP5/LRP6#4, LRP5/LRP6#5, LRP5/LRP6#6, как определено CDR и/или VH/VL последовательностями из Таблиц 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c) вводят пациенту, который в этом нуждается. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 30. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 31 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 32. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую

аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 33 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 34.

В другом аспекте изобретение относится к набору, включающему в одном или нескольких контейнерах

- первую фармацевтическую композицию или дозированную форму, включающую LRP5/LRP6 антагонист (например, любого из LRP5/LRP6#1, LRP5/LRP6#2, LRP5/LRP6#3, LRP5/LRP6#4, LRP5/LRP6#5, LRP5/LRP6#6, как определено CDR и/или VHH последовательностями из Таблиц 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c), и, необязательно, один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, наполнителей и/или вспомогательных веществ, и

- вторую фармацевтическую композицию или дозированную форму, включающую антитело к PD-1, как описано в настоящей заявке (например, любого из PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5, как определено CDR и/или VH/VL последовательностями из Таблиц 3 и 4), и, необязательно, один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, наполнителей и/или вспомогательных веществ.

- и необязательно листок-вкладыш в упаковке, включающий напечатанные инструкции.

В предпочтительных вариантах осуществления наборов согласно изобретению, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 30. В предпочтительных вариантах осуществления наборов согласно изобретению, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 31 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 32. В предпочтительных вариантах осуществления

наборов согласно изобретению, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 33 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 34.

Предпочтительно, листок-вкладыш включает напечатанные инструкции для одновременного, конкурентного, последовательного, одно за одним, попеременное или раздельное применение для лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, в особенности злокачественного новообразования, как описано в настоящей заявке, у пациента, который в этом нуждается.

В другом аспекте изобретение относится к вышеуказанным наборам для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, как описано в настоящей заявке.

В другом аспекте изобретение относится к фармацевтической композиции, включающей

- LRP5/LRP6 антагонист (например, любого из LRP5/LRP6#1, LRP5/LRP6#2, LRP5/LRP6#3, LRP5/LRP6#4, LRP5/LRP6#5, LRP5/LRP6#6, как определяется CDR и/или VHH последовательностями из Таблиц 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c),
- а антитело к PD-1, как описано в настоящей заявке (например, любого из PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5, как определено CDR и/или VH/VL последовательностями из Таблиц 3 и 4), и,
- необязательно, один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, наполнителей и/или вспомогательных веществ.

В предпочтительных вариантах осуществления фармацевтической композиции согласно изобретению, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность,

представленную в SEQ ID NO: 30. В предпочтительных вариантах осуществления фармацевтической композиции согласно изобретению, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 31 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 32. В предпочтительных вариантах осуществления фармацевтической композиции согласно изобретению, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 33 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 34.

В другом аспекте изобретение относится к применению LRP5/LRP6 антагониста (например, любого из LRP5/LRP6#1, LRP5/LRP6#2, LRP5/LRP6#3, LRP5/LRP6#4, LRP5/LRP6#5, LRP5/LRP6#6, как определяется CDR и/или VHH последовательностями из Таблиц 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c) для приготовления фармацевтической композиции для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, как описано в настоящей заявке, где LRP5/LRP6 антагонист применяют в комбинации с PD-1 антителом, как описано в настоящей заявке (например, любого из PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5, как определено CDR и/или VH/VL последовательностями из Таблиц 3 и 4). В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 30. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 31 и

легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 32. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 33 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 34.

В другом аспекте изобретение относится к применению PD-1 антитела, как описано в настоящей заявке (например, любого из PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5, как определено CDR и/или VH/VL последовательностями из Таблиц 3 и 4) для приготовления фармацевтической композиции для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, как описано в настоящей заявке, где PD-1 антагонист применяют в комбинации с LRP5/LRP6 антагонист (например, любого из LRP5/LRP6#1, LRP5/LRP6#2, LRP5/LRP6#3, LRP5/LRP6#4, LRP5/LRP6#5, LRP5/LRP6#6, как определено CDR и/или VHH последовательностями из Таблиц 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c). В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 30. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 31 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 32. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 33 и

легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 34.

В другом аспекте изобретение относится к применению LRP5/LRP6 антагониста (например, любого из LRP5/LRP6#1, LRP5/LRP6#2, LRP5/LRP6#3, LRP5/LRP6#4, LRP5/LRP6#5, LRP5/LRP6#6, как определено CDR и/или VHH последовательностями из Таблиц 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c) и PD-1 антитело (например, любого из PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5, как определено CDR и/или VH/VL последовательностями из Таблиц 3 и 4), для приготовления фармацевтической композиции для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, как описано в настоящей заявке. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 30. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 31 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 32. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 33 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 34.

В другом аспекте, изобретение относится к комбинации, фармацевтической композиции или набору в соответствии с изобретением, каждая (ый), как описано в настоящей заявке, включающая, состоящая или по существу состоящая из LRP5/LRP6 антагониста (например, любого из LRP5/LRP6#1, LRP5/LRP6#2, LRP5/LRP6#3, LRP5/LRP6#4, LRP5/LRP6#5, LRP5/LRP6#6, как

определено CDR и/или VHH последовательностями из Таблиц 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c) и антитела к PD-1, (например, любого из PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5, как определено CDR и/или VH/VL последовательностями из Таблиц 3 и 4), для применения в способе лечения и/или предотвращения или гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, как описано в настоящей заявке. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 30. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 31 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 32. В предпочтительных вариантах осуществления, LRP5/LRP6 антагонист включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66 и PD-1 антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 33 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 34.

Комбинации вариантов осуществления изобретения по отношению к LRP5/LRP6 антагонисту (например, любому из LRP5/LRP6#1, LRP5/LRP6#2, LRP5/LRP6#3, LRP5/LRP6#4, LRP5/LRP6#5, LRP5/LRP6#6 и по отношению к PD-1 антагонисту PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5 приводят к получению специфических комбинаций, который все рассматриваются как специфически раскрытые и составляют варианты осуществления изобретения и все из таких комбинаций, композиций, наборов, способов, применений и соединений для применения, включая способы, используя специфическое введение/схемы приема, как подробно описано ниже, и/или для лечения специфических злокачественных новообразований, как подробно описано ниже.

Пути введения для LRP5/LRP6 антагониста и/или антитела к PD1, как описано в настоящей заявке, включают, но не ограничиваясь только ими, парентеральное (например, внутримышечная, внутривенная, трансдермальная или подкожная инъекция, или имплант), пероральное, энтеральное, назальное, вагинальное, ректальное или местное введение. В предпочтительном варианте осуществления, путь введения представляет собой внутривенное введение, в особенности внутривенную инфузию или инъекцию. Соединения согласно настоящему изобретению могут быть приготовлены, отдельно или совместно, в подходящих дозированных единичных препаратах, содержащих общепринятые нетоксичные фармацевтически приемлемые носители, наполнители и/или заполнители, подходящие для каждого пути введения. Более предпочтительно, препараты включают твердые, полутвердые или жидкие дозированные формы, такие как лиофилизация, жидкие растворы (например, растворы для инъекций и инфузий), дисперсии или суспензии, липосомы и суппозитории. Предпочтительный путь зависит от предназначенного пути введения и терапевтического применения. Особенно предпочтительные варианты осуществления включают жидкие препараты и лиофилизацию. В случае лиофилизации, лиофилизат может быть восстановлен в жидкости, предпочтительно в воде.

Введение антитела к PD-1, как описано в настоящей заявке, может осуществляться, например, путем инъекции (например, подкожно или внутривенно) в дозе от приблизительно от 0,1 до 30 мг/кг веса тела пациента, например, приблизительно от 0,5 до 25 мг/кг веса тела пациента, приблизительно от 1 до 20 мг/кг веса тела пациента, приблизительно от 2 до 5 мг/кг веса тела пациента, или приблизительно 3 мг/кг веса тела пациента.

В других вариантах осуществления, антитело к PD-1 вводят в дозе от приблизительно 10 до 20 мг/кг веса тела пациента один раз в две недели. Молекула антитела может вводиться путем внутривенной инфузии со скоростью более, чем 20 мг/мин, например, 20-40 мг/мин, и типично больше, чем или равно 40 мг/мин для достижения дозы от приблизительно 35 до 440 мг/м², типично приблизительно от 70 до 310 мг/м², и более типично, приблизительно от 110 до 130 мг/м². В других вариантах осуществления, скорость инфузии от приблизительно 110 до 130 мг/м² обеспечивает уровень приблизительно 3 мг/кг веса тела пациента. В других вариантах осуществления, молекула антитела

может вводиться путем внутривенной инфузии со скоростью меньше, чем 10 мг/мин, например, меньше, чем или равной 5 мг/мин для достижения дозы от приблизительно 1 до 100 мг/м², например, приблизительно от 5 до 50 мг/м², приблизительно от 7 до 25 мг/м², или, приблизительно 10 мг/м². В других вариантах осуществления, антитело инфузируется в течение периода времени приблизительно 30 минут.

Предпочтительные схемы приема для антитела к PD-1, описанного в настоящей заявке, включают 1 мг/кг веса тела пациента или альтернативно 3 мг/кг веса тела пациента посредством внутривенного введения, где антитело вводят один раз в три недели или один раз в четыре недели.

LRP5/LRP6 антагонист, описанный в настоящей заявке, или композиции, которые его содержат, могут вводиться, например, внутривенно (в/в), подкожно (п/к), внутримышечно (в/м), внутривентриально (в/б), через кожу, перорально, сублингвально (например, в форме сублингвальной таблетки, спрея или капель, помещаемых под язык и адсорбируемых через слизистые мембраны в подъязычную капиллярную сеть), (интра-)назально (например, в форме назального спрея и/или аэрозоля), местно, с помощью суппозитория, путем ингаляции, или любым другим подходящим способом в эффективном количестве или дозировке.

LRP5/LRP6 антагонисты, описанные в настоящей заявке, в целом будут вводиться в количестве от 0,005 до 20,0 мг на кг веса тела пациента и дозу, предпочтительно в диапазоне от 0,05 до 10,0 мг/кг, и более предпочтительно в диапазоне от 0,5 до 10 мг/кг/дозу, но может изменяться, в особенности, в зависимости от специфического заболевания, нарушения или состояния, подвергаемого лечению, эффективного конкретного используемого LRP5/LRP6 антагониста, используемых конкретного пути введения и конкретного фармацевтического препарата или композиции. Поэтому в некоторых случаях достаточной может быть доза меньше указанной здесь минимальной дозы, тогда как в других случаях она может превышать верхнюю границу. При введении больших количеств рекомендуется разделять их на ряд меньших доз, принимаемых в течение дня.

Следует принять во внимание, что значения дозировок могут изменяться в зависимости от типа и тяжести состояния, подлежащего облегчению. Следует дополнительно принять во внимание, что для любого конкретного субъекта,

специфические режимы дозирования будут корректироваться в динамике в соответствии с индивидуальной потребностью и профессиональным суждением лица, осуществляющего введение или контролирующего введение композиций.

LRP5/LRP6 антагонист и антитело к PD1, как описано в настоящей заявке может вводиться в терапевтически эффективных количествах в однократных или разделенных дозах, вводимых в подходящие временные интервалы. Терапевтически эффективное количество относится к количеству, эффективному в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения желательного терапевтического результата и представляет собой минимальное количество, необходимое для предотвращения, ослабления или лечения заболевания или нарушения. Терапевтически эффективное количество соединений, описанных в настоящей заявке, может изменяться в соответствии с факторами, такими как болезненное состояние, возраст, пол и вес индивидуума, и способности соединения выживать желательную ответную реакцию у индивидуума. Терапевтически эффективное количество представляет собой такое количество, для которого любые токсические или неблагоприятные эффекты соединения перевешиваются терапевтически благоприятными эффектами. Терапевтически эффективная доза предпочтительно ингибирует измеряемый параметр, например, скорость роста опухоли, по меньшей мере приблизительно на 20%, более предпочтительно по меньшей мере приблизительно на 40%, еще более предпочтительно по меньшей мере приблизительно на 60%, и еще более предпочтительно по меньшей мере приблизительно на 80% относительно нелеченных субъектов или относительно предшествующего нелеченного периода для того же субъекта, который подвергается лечению.

Активные соединения могут вводиться в таких дозах, которые являются терапевтически эффективными при монотерапии, или в таких дозах, которые являются более низкими или более высокими, чем дозы, используемые в монотерапии, но в комбинации приводят к желательному (совместно) терапевтически эффективному количеству. Это может быть полезным, например, для избегания, ограничения или уменьшения любых нежелательных побочных эффектов, которые ассоциированы с применением одного или нескольких веществ или активных компонентов, когда они используются в их обычных

количеств, при этом все еще получая желательный фармакологический или терапевтический эффект.

Количество соединений, описанных в настоящей заявке, для применения для лечения, может быть адаптировано для конкретного выбранного соединения, пути введения, природы состояния, подвергаемого лечению, и возраста и состояния пациента и в конечном итоге определяются выбором дежурного врача или клинициста. Также, дозировка соединений, описанных в настоящей заявке, может быть адаптирована, в зависимости от целевой клетки, опухоли, ткани, трансплантата или органа.

Желательная доза LRP5/LRP6 антагониста или антитела к PD-1 обоих, как описано в настоящей заявке, может вводиться в виде фиксированного количества на введение или в виде болюса, для достижения установленной концентрации в крови у пациента.

В контексте настоящего изобретения является желательным, что LRP5/LRP6 антагонист и антитело к PD1 могут вводиться в виде препарата либо зависимо (то есть смешанные совместно в одной композиции) или независимо (то есть в виде отдельных композиций), где такое введение обеспечивает терапевтически эффективные уровни двух соединений в организме пациента. Последнее также применяется к коктейльной терапии, например, к введению трех или большего количества активных агентов. Другими словами, LRP5/LRP6 антагонист и антитело к PD1 могут вводиться либо в виде части одной и той же фармацевтической композиции/дозированной формы, или, предпочтительно, в отдельных фармацевтических композициях/дозированных формах. В тех случаях, когда введение осуществляется в отдельных фармацевтических композициях/дозированных формах, то подразумевается, что в соответствии с настоящим изобретением такое введение охватывает одновременное, конкурентное, последовательное или попеременное введение активных агентов или компонентов.

Термин “одновременное” (также обозначаемое в настоящей заявке как “сопутствующее”) относится к введению как соединений, так и композиций по существу в одно и то же время.

Конкурентное введение включает введение активных агентов в пределах одного и того же общего периода времени, например, в один и тот же день (дни), но не обязательно в одно и то же время.

Последовательное введение включает введение одного агента в течение первого периода времени (например, в течение нескольких часов, дней или недели), используя одну или несколько доз, с последующим введением другого агента в течение второго периода времени (например, в течение нескольких часов, дней или недели), используя одну или несколько доз. Также может применяться перекрывающаяся схема, которая включает введение активных агентов в различные дни в течение периода лечения, но не обязательно в соответствии с регулярной последовательностью. Альтернативно, также используется введение одно за одним, вторая стадия введения осуществляется, как только закончилось введение первых соединений. Квалифицированный специалист в данной области техники знает, как определить окончание первой стадии введения, таким образом, предоставляя им возможность идентифицировать подходящую временную точку для инициации второй стадии введения.

Попеременное введение включает введение одного агента в течение периода времени, например, в течение нескольких часов, дней или недели, с последующим введением другого агента в течение последующего периода времени, например, в течение нескольких часов, дней или недели, и затем повторяя схему для одного или нескольких циклов, где общее число повторов зависит от выбранной схемы лечения.

Также можно применять вариации этих общих руководств, например, в соответствии с используемыми агентами и состоянием субъекта.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения, в способе в соответствии с настоящим изобретением, LRP5/LRP6 антагонист и антитело к PD1 каждый, как описано в настоящей заявке вводят одновременно или конкурентно (например, путем внутривенной инфузии или подкожно) в течение первого периода с последующим вторым периодом, когда вводят антитело к PD1 (например, путем внутривенной инфузии или подкожно) и не вводят LRP5/LRP6 антагонист. В других вариантах осуществления, первый период составляет 3 или 6 недель, когда полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, и PD1 антитело вводят один раз в три недели. В других вариантах осуществления, первый период составляет 4 или 8 недель, когда полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, и PD1 антитело вводят один раз в четыре недели. Является особенно предпочтительным, что эту схему

введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#1, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-1, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#5, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-1, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту

схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#6, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-1, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют

с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#1, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-2, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак

мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#5, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-2, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#6, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-2, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#1, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-3, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6

антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#5, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-3, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#6, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-3, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения, LRP5/LRP6 антагонист и антитело к PD1, как описано в настоящей заявке оба вводят (одновременно или конкурентно путем внутривенной инфузии или подкожно) один раз в три недели в течение первого периода (например, 3 или 6 недель), и затем вводят антитело к PD1, например, один раз в три недели в течение второго периода (например, путем внутривенной инфузии или подкожно). Например, LRP5/LRP6 антагонист и антитело к PD1 вводят одновременно или конкурентно (например, путем внутривенной инфузии или подкожно) в (I) неделю 1 или (II) в неделю 1 и неделю 4, и затем вводят PD1 антитело, например, в неделю 7, 10, и любую последующую третью неделю (неделю 13, 16, и т.д.) до остановки лечения. В случае варианта (I), PD1 антитело уже вводили отдельно в неделю 4 (то есть вместо комбинированного введения с LRP5 антагонистом, как в варианте (II)).

Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#1, и

антителом к PD-1, представляющим собой PD1-1, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#5, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-1, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#6, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-1, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#1, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-2, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или

резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#5, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-2, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#6, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-2, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#1, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-3, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#5, и антителом к PD-1,

представляющим собой PD1-3, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#6, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-3, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения, LRP5/LRP6 антагонист и антитело к PD1, как описано в настоящей заявке оба вводят (одновременно или конкурентно путем внутривенной инфузии или подкожно) один раз в четыре недели в течение первого периода (например, 4 или 8 недель), и затем вводят антитело к PD1, например, один раз в четыре недели, в течение второго периода (например, путем внутривенной инфузии или подкожно). Например, LRP5/LRP6 антагонист и антитело к PD1 вводят одновременно или конкурентно (например, путем внутривенной инфузии или подкожно) в (I) неделю 1 или (II) в неделю 1 и неделю 5, и затем вводят PD1 антитело, например, в неделю 9, 13, и любую последующую четвертую неделю (неделя 17, 21, и т.д.) до остановки лечения. В случае варианта (I), PD1 антитело уже вводили отдельно в неделю 5 (то есть вместо комбинированного введения с LRP5 антагонистом, как в варианте (II)).

Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#1, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-1, еще более предпочтительно ее

применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#5, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-1, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#6, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-1, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#1, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-2, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или

любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#5, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-2, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#6, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-2, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#1, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-3, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#5, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-3, еще более предпочтительно ее применяют для

лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#6, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-3, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек.

Предпочтительно, LRP5/LRP6 антагонист, как описано в настоящей заявке (например, в дозе от приблизительно 0,5 до 10 мг/кг веса тела пациента) и антитело к PD1, как описано в настоящей заявке (например, в любой дозе 2, 3, 4, или 5 мг/кг веса тела пациента) оба вводят (одновременно или конкурентно путем внутривенной инфузии или подкожно) один раз в три или четыре недели в течение первого периода (например, что соответствует 1 или 2 дозировкам), и затем вводят антитело к PD1, например, один раз в три или четыре недели в течение второго периода (например, путем внутривенной инфузии или подкожно). Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#1, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-1, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или

резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#5, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-1, еще более предпочтительно ее применяют для

5 лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли,

10 которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#6, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-1, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных

15 новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается

20 лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#1, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-2, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-

25 кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к

30 лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#5, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-2, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта,

меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#6, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-2, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#1, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-3, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#5, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-3, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением

ингибитора контрольных точек. Является особенно предпочтительным, что эту схему введения применяют с LRP5/LRP6 антагонистом, который представляет собой LRP5/LRP6#6, и антителом к PD-1, представляющим собой PD1-3, еще более предпочтительно ее применяют для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, меланомы, рака мочевого пузыря или рака легких (включая злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, меланомы, рак мочевого пузыря и рак легких, которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибитора контрольных точек) или любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к лечению с применением ингибитора контрольных точек.

В других вариантах осуществления изобретения, LRP5/LRP6 антагонист и антитело к PD1, как описано в настоящей заявке оба вводят (одновременно или конкурентно путем внутривенной инфузии или подкожно) один раз в три или четыре недели в течение первого периода (например, что соответствует 1 или 2 дозировкам), и затем вводят антитело к PD1 еженедельно, через неделю, один раз в три недели или раз в месяц в течение второго периода (например, путем внутривенной инфузии или подкожно).

В зависимости от заболевания, подвергаемого лечению, комбинированная терапия, как определено в настоящей заявке, может применяться самостоятельно или в дальнейшей комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами, в особенности, выбранными из химиотерапевтических средств или терапевтически активных соединений, которые ингибируют ангиогенез, пути передачи сигналов или митотические контрольные точки в раковых клетках.

Дополнительное терапевтическое средство может вводиться одновременно с, необязательно в качестве компонента одного и того же фармацевтического препарата, или перед или после введения LRP5/LRP6 антагониста и/или PD1 антитела.

Это (эти) дополнительное (ые) терапевтическое (ие) средство (а) может (могут) (каждое) быть выбраны из следующих компонентов (но не ограничиваясь только ими):

- иммунотерапевтическое средство, такое как модуляторы ингибиторов следующих контрольных точек: TIM3, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, VISTA, BTLA, TIGIT, CD160, LAIR1, 2B4, CEACAM;

- противораковая вакцина;

5 • агент, повреждающий ДНК;

- ингибитор ангиогенеза;

- ингибитор путей передачи сигналов;

- ингибитор митотических контрольных точек; и

гормоны, аналоги гормонов и антигормоны (например, тамоксифен, торемифен, ралоксифен, фулвестрант, мегестрол ацетат, флутамид, нилутамид, бикалутамид, аминоглутетимид, ацетат ципротерона, финастерид, ацетат бусерелина, флудрокортизон, флуоксиместрон, медроксипрогестерон, октреотид), ингибиторы ароматазы (например, анастрозол, летрозол, лиарозол, ворозол, эксеместан, атаместан), агонисты и антагонисты LHRH (например, ацетат гозерелина, лупролид), ингибиторы факторов роста (таких факторов роста, как, например, “тромбоцитарный фактор роста (PDGF)”, “фактор роста фибробластов (FGF)”, “фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF)”, “эпидермальный фактор роста (EGF)”, “инсулиноподобный фактор роста (IGF)”, “человеческий эпидермальный фактор роста (HER, например, HER2, HER3, HER4)” и “фактор роста гепатоцитов (HGF)”), ингибиторами являются, например, антитела против “факторов роста”, антитела против “рецепторов факторов роста” и ингибиторы тирозинкиназы, такие, как, например, цетуксимаб, гефинитиб, иматиниб, лапатиниб, босутиниб и трастузумаб); антиметаболиты (например, антифолаты, такие, как метотрексат, ралтитрексед, аналоги пиримидина, такие, как 5-фторурацил (5-FU), капецитабин и гемцитабин, аналоги пурина и аденозина такие, как меркаптопурин, тиогуанин, кладрибин и пентостатин, цитарабин (ara C), флударабин); противоопухолевые антибиотики (например, антрациклины, такие, как доксорубицин, доксил (пегилированный липосомальный гидрохлорид доксорубицина, миоцет (непегилированный липосомальный доксорубицин), даунорубицин, эпирубицин и идарубицин, митомицин-С, блеомицин, дактиномицин, пликамицин, стрептозоцин); производные платины (например, цисплатин, оксалиплатин, карбоплатин); алкилирующие агенты (например, эстрамустин, мехлорэтамин,

мелфалан, хлорамбуцил, бусульфан, дакарбазин, циклофосфамид, ифосфамид, темозоломид, нитрозомочевины, такие, как, например, кармустин и ломустин, тиотепа); антимитотические агенты (например, алкалоиды барвинка, такие, как, например, винбластин, виндезин, винорелбин и винуристин; и таксаны, такие, как паклитаксел, доцетаксел); ингибиторы ангиогенеза (например, тасквинимод), ингибиторы тубулина; ингибиторы синтеза ДНК (например, сапатитабин), ингибиторы PARP, ингибиторы топоизомеразы (например, эпидофиллотоксины, такие, как, например, этопозид и этопофос, тенипозид, амсакрин, топотекан, иринотекан, митоксантрон), ингибиторы серин / треонинкиназы (например, ингибиторы PDK 1, ингибиторы Raf, ингибиторы A-Raf, ингибиторы B-Raf, ингибиторы C-Raf, ингибиторы mTOR, ингибиторы mTORC1/2, ингибиторы PI3K, ингибиторы PI3K α , двойные ингибиторы mTOR/PI3K, ингибиторы STK 33, ингибиторы АКТ, ингибиторы PLK 1, ингибиторы CDK, ингибиторы авроракиназы), тирозинкиназы ингибиторы (например, PTK2/FAK ингибиторы), ингибиторы белок-белкового взаимодействия (например, активатор IAP, Mcl-1, MDM2/MDMX), ингибиторы MEK (например, пимасертиб), ингибиторы ERK, ингибиторы FLT3 (например, квизартиниб), ингибиторы BRD4, ингибиторы IGF-1R, агонисты TRAILR2, ингибиторы Bcl-xL, ингибиторы Bcl-2 (например, венетоклакс), ингибиторы Bcl-2/Bcl-xL, ингибиторы рецептора ErbB, ингибиторы BCR-ABL, ингибиторы ABL, ингибиторы Src, аналоги рапамицина (например, эверолимус, темсиролиму, ридафоролимус, сиролимус), ингибиторы синтеза андрогена (например, абиратерон, TAK-700), ингибиторы андрогенного рецептора (например, энзалутамид, ARN-509), иммунотерапия (например, сипулейцел-Т), DNMT ингибиторы (например, SGI 110, темозоломид, восароксин), ингибиторы HDAC (например, вориностат, энтиноностат, праиноностат, панобиноностат), ингибиторы ANG1/2 (например, требананиб), ингибиторы CYP17 (например, галетерон), радиофармацевтические средства (например, радий-223, альфарадин), иммунотерапевтические агенты (например, вакцина на основе поксвируса, ипилимумаб, ингибиторы иммунных контрольных точек) и различные химиотерапевтические агенты, такие, как амифостин, анагрелид, клодронат, филграстин, интерферон, интерферон альфа, лейковорин, ритуксимаб, прокарбазин, левамизол, месна, митотан, памидронат и порфирмер;

2-хлорорезоксиаденозин, 2-фторорезоксидитидин, 2-метоксиэстрадиол, 2C4, 3-алетин, 131-I-TM-601, 3CPA, 7-этил-10-гидроксикампитотексин, 16-аза-эпотилон В, АВТ-199, АВТ-263/навитоклак, АВТ-737, А 105972, А 204197, альдеслейкин, алисертиб/MLN8237, алитретиноин, алловектин-7, алтретамин, альвоцидиб, амонафид, антрапиразол, AG-2037, AP-5280, апазиковон, апомин, араноза, арглабин, арзоксифен, атаместан, антрасентан, ауристин PE, AVLB, AZ10992, ABX-EGF, AMG-479 (ганитумаб), AMG-232, AMG-511, AMG 2520765, AMG 2112819, ARRY 162, ARRY 438162, ARRY-300, ARRY-142886/AZD-6244 (селуметиниб), ARRY-704/ AZD-8330, ATSP-7041, AR-12, AR-42, AS-703988, AXL-1717, AZD-1480, AZD-4547, AZD-8055, AZD-5363, AZD-6244, AZD-7762, ARQ-736, ARQ 680, AS-703026 (примасертиб), авастин, AZD-2014, азацитидин (5-aza), азаэпотилон В, азонафид, барасертиб/AZD1152, BAY-43-9006, BAY 80-6946, BBR-3464, BBR-3576, бевацизумаб, BEZ-235/дактолисиб, бирикодар дицитрат, биринапант, BCX-1777, BKM-120/бупарлисиб, блеоцин, BLP-25, BMS-184476, BMS-247550, BMS-188797, BMS-275291, BMS-663513, BMS-754807, BNP-1350, BNP-7787, BIBW 2992/афатиниб, BIBF 1120/нинтеданиб, BI 836845, BI 2536, BI 6727/воласертиб, BI 836845, BI 847325, BI 853520, ВПВ-022, блеомициновая кислота, блеомицин А, блеомицин В, бриваниб, бриостатин-1, бортезомиб, бросталлицин, бусульфид, BYL-719/алпелисиб, пролекарство СА-4, СА-4, кабазитаксел, кабозантиниб, CapCell, кальцитриол, канертиниб, канфосфамид, капецитабин, карбоксифталатоплатин, CCI-779, CC-115, CC-223, CEP-701, CEP-751, СBT-1 цефиксим, цефлатонин, цефтриаксон, целекоксиб, целмолейкин, цемадотин, CGM-097, CN4987655/RO-4987655, хлортрианизен, цилегитид, циклоспорин, анти-CD20 антитела, CDA-II, CDC-394, CKD-602, SKI-27, клофарабин, колхицин, комбретастатин А4, ингибиторы COT, CHS-828, CN-5132799, CLL-Thera, CMT-3 криптофицин 52, CPI-613, CTP-37, CTLA-4 моноклональные антитела (например, ипилимумаб), CP-461, кризотиниб, CV-247, цианоморфолинодоксорибицин, цитарабин, D 24851, дазатиниб, децитабин, деоксорибицин, дезоксирубицин, дезоксиформидин, депсипептид, дезоксиэпотилон В, дексаметазон, декстразоксанет, диэтилстильбэстрол, дифломотекан, дидокс, DMDC, доластатин 10, доранидазол, DS-7423, DS-3032, E7010, E-6201, эдатрексам, эдотреотид, эфапроксирал, эфлорнитин, ингибиторы EGFR, ЕКВ-569, ЕКВ-509, энзастаурин, элескломол, эльзамитруцин, эпотилон В, эпратузимаб, EPZ-004777, ER-86526, эрлотиниб, ET-18-ОСН3,

этинилцитидин, этинилэстрадиол, экзатекан, экзатекан мезилат, эксеместан, экзисулинд, фенретинид, фигитумумаб, флоксуридин, фолиевая кислота, FOLFOX, FOLFOX4, FOLFIRI, форместан, фостаматиниб, фотемустин, галарубицин, мальтолат галлия, ганетеспиб, гефинитиб, гемтузумаб, гемтузумаб

5 озогамицин, гиматекан, глуфосфамид, GCS-IOO, GDC-0623, GDC-0941 (пиктрелисиб), GDC-0980, GDC-0032, GDC-0068, GDC-0349, GDC-0879, G17DT иммуноген, GMK, GMX-1778, GPX-100, вакцины на основе gp100-пептида, GSK-5126766, GSK-690693, GSK-1120212 (траметиниб), GSK-1995010, GSK-2118436 (дабрафениб), GSK-2126458, GSK-2132231A, GSK-2334470, GSK-2110183, GSK-

10 2141795, GSK-2636771, GSK-525762A/I-BET-762, GW2016, гранисетрон, герцептин, гексаметилмеламин, гистамин, гомогаррингтонин, гиалуроновая кислота, гидроксимочевина, гидроксипрогестерон капроат, HDM-201, ибандронат, ибритутомаб, ибрутиниб/PCI-32765, идазанутлин, идатрексат, иделалисиб/CAL-101, иденстрол, IDN-5109, ингибиторы IGF-1R, IMC-1C11,

15 IMC-A12 (циксутумумаб), иммунол, индисулам, интерферон альфа-2a, интерферон альфа-2b, пегилированный интерферон альфа-2b, интерлейкин-2, INK-1117, INK-128, INSM-18, ионафарниб, ипроплатин, ирофульвен, изогомогалихондрин-B, изофлавоон, изотретиноин, иксабепилон, JRX-2, JSF-154, JQ-1, J-107088, конъюгированные эстрогены, кахалид F, кетоконазол, KW-2170,

20 KW-2450, KU-55933, LCL-161, лобоплатин, лефлуномид, леналидомид, ленограстим, лейпролид, лейпорелин, лексидронам, LGD-1550, линезолид, ловастатин, тексафин лютеция, лометрексол, лонидамин, лозоксантрон, LU 223651, лурбинэктедин, луртотекан, LY-S6AKT1, LY-2780301, LY-2109761/галунисертиб, мафосфамид, маримастат, мазопрокол, мехлорэтамин,

25 ингибиторы MEK, MEK-162, метилтестостерон, метилпреднизолон, MEDI-573, MEN-10755, MDX-H210, MDX-447, MDX-1379, MGV, мидостаурин, минодроновая кислота, митомицин, мивобулин, МК-2206, МК-0646 (далотузумаб), MLN518, MLN-0128, MLN-2480, мотексафин гадолиния, MS-209, MS-275, MX6, неридронат, нератиниб, нексавар, неовастат, нилотиниб,

30 нимесулид, нитроглицерин, полатрексед, норелин, N-ацетилцистеин, NU-7441 06-бензилгуанин, облимерсен, омепразол, олапариб, онкофаг, oncoVEX^{GM-CSF}, ормиплатин, ортатаксел, анти-OX44 антитела, OSI-027, OSI-906 (линзитиниб), анти-4-1BB антитела, оксантазол, эстроген, онапристон, палбоциклиб/PD-0332991, панитумумаб, панобиностат, патупилон, пазопаниб, пэгфилграстим,

РСК-3145, пэгфилграстим, PBI-1402, PBI-05204, PD0325901, и PD-L1 антитела (например, пембролизумаб, ниволумаб, пидилизумаб, MEDI-4736/дурвалумаб, RG-7446/атезолизумаб), PD-616, PEG-паклитаксел, альбумин-стабилизированный паклитаксел, PEP-005, PF-05197281, PF-05212384, PF-04691502, PF-3758309, PHA-665752, PHT-427, P-04, PKC412, P54, PI-88, пелитиниб, пеметрексед, пентрикс, перифосин, периллиловый спирт, пертузумаб, певонедистат, ингибиторы PI3K, ингибиторы PI3K/mTOR, PG-TXL, PG2, PLX-4032/RO-5185426 (вемурафениб), PLX-3603/RO-5212054, PT-100, PWT-33597, PX-866, пикоплатин, пивалоилоксиметилбутират, пиксантрон, феноксодиол О, PKI166, плевитрексед, плиткамицин, полипреновая кислота, понатиниб, порфирамицин, позаконазол, преднизон, преднизолон, PRT-062607, квинамед, квинупристин, квизартиниб/AC220, R115777, RAF-265, рамосетрон, ранпирназа, RDEA-119/BAY 869766, RDEA-436, аналоги ребеккамицина, ингибиторы рецептора тирозинкиназы (RTK), ревимид, RG-7167, RG-7112, RG-7304, RG-7421, RG-7321, RG-7356, RG 7440, RG-7775, ризоксин, rhu-MAb, ригосертиб ринфабат, ризедронат, ритуксимаб, робатумумаб, рофекоксиб, ромидепсин, RO-4929097, RO-31-7453, RO-5126766, RO-5068760, RPR 109881A, рубидазон, рубитекан, R-флурбипрофен, RX-0201, руксолитиниб, S-9788, сабарубицин, SAHA, сапацитабин, SAR-405838, сарграмостим, сатраплатин, SB-408075, SB-431542, Se-015/Ve-015, SU5416, SU6668, SDX-101, селинексор, семустин, сеокальцитол, SM-11355, SN-38, SN-4071, SR-27897, SR-31747, SR-13668, SRL-172, сорафениб, спироплатин, скваламин, STF-31, суберанилогидроксамовая кислота, сутент, T 900607, T 138067, TAE-684, TAK-733, TAS-103, тацединалин, талапорфин, танеспимицин, Тарцева, тариквитар, тасисулам, таксотер, таксопрексин, тазаротен, тегафур, темозоламид, тесмилифен, тестостерон, тестостерон пропионат, тесмилифен, тетраплатин, тетродотоксин, тезацитабин, талидомид, тералукс, терарубицин, тимальфазин, тимектацин, тиазофурин, типифарниб, тирапазамин, токладезин, томудекс, торемофин, тоседостат, трабектедин, TransMID-107, трансретиновая кислота, трастузумаб, тремелимумаб, третиноин, триацетилуридин, триапин, трицирибин, триметрексат, TLK-286TXD 258, тайкерб / тайверб, уроцидин, вальпроевая кислота, валрубицин, вандетаниб, ваталаниб, винкристин, винфлюнин, вирулизин, висмодегиб, восароксин, WX-UK1, WX-554, вектибикс, XAV-939, кселода, XELOX, XL-147, XL-228, XL-281, XL-518/R-7420/GDC-0973, XL-765,

YM-511, YM-598, ZD-4190, ZD-6474, ZD-4054, ZD-0473, ZD-6126, ZD-9331, ZDI839, ZSTK-474, золедронат и зосуквидар.

В других вариантах осуществления, комбинированная терапия, как указано, включает LRP5/LRP6 антагонист и антитело к PD-1, как описано в настоящей заявке, без какого-либо дополнительного химиотерапевтического средства.

Гиперпролиферативные заболевания/злокачественные новообразования

Комбинации, композиции, наборы, применения, способы и соединения для применения в соответствии с настоящим изобретением (включая все варианты осуществления) пригодны для лечения и/или предотвращения гиперпролиферативных нарушений, в особенности злокачественного новообразования.

В определенных вариантах осуществления, комбинации, композиции, наборы, применения, способы и соединения для применения в соответствии с настоящим изобретением (включая все варианты осуществления) пригодны для лечения гиперпролиферативных нарушений, в особенности злокачественного новообразования.

Как используется в настоящей заявке, „гиперпролиферативное заболевание“ относится к состояниям, при которых рост клеток превышает нормальные уровни. Например, гиперпролиферативные заболевания или нарушения включают злокачественные заболевания (например, рак пищевода, рак ободочной кишки, рак жёлчных протоков) и незлокачественные заболевания (например, атеросклероз, доброкачественную гиперплазию, доброкачественную гипертрофию предстательной железы).

В предпочтительных вариантах осуществления, гиперпролиферативное нарушение представляет собой злокачественное новообразование. В предпочтительном варианте осуществления, указанное злокачественное новообразование характеризуется тем, что оно заякоривает мутированный/инактивированный RNF43 или активирующий (е) R-спондин слитой (ые) транскрипт (ы).

Злокачественные новообразования классифицируются двумя способами: по типу ткани, из которой происходит злокачественное новообразование (гистологический тип) и по первичному сайту, или локализации в организме, где впервые развивается злокачественное новообразование. Наиболее распространенные сайты, в которых развиваются злокачественные

новообразования, включают кожу, легкие, молочную железу, предстательную железу, ободочную кишку и прямую кишку, шейку матки и матку, а также гематологический компартмент.

Комбинации, композиции, наборы, применения, способы и соединения для применения в соответствии с изобретением (включая все варианты осуществления) могут быть пригодными для лечения различных гиперпролиферативных нарушений, в особенности злокачественных новообразований, включая, например, но не ограничиваясь только ими, следующие:

- злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, такие как рак пищевода (например, рак пищеводно-желудочного перехода), рак желудка, гепатоцеллюлярную карциному, рак жёлчных протоков (например, холангиокарциному), рак желчного пузыря, рак поджелудочной железы или рак толстой и прямой кишки (CRC);
- меланома;
- рак мочевого пузыря; и
- рак легких (например, NSCLC).

В других вариантах осуществления изобретения, комбинации, композиции, наборы, применения, способы и соединения для применения в соответствии с изобретением (включая все варианты осуществления) пригодны для лечения злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, предпочтительно рака пищевода (например, рак пищеводно-желудочного перехода), рака желудка, гепатоцеллюлярной карциномы, рака жёлчных протоков (например, холангиокарциному), рака желчного пузыря, рака поджелудочной железы или рака толстой и прямой кишки (CRC). Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к

PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1.

В других вариантах осуществления изобретения, комбинации, композиции, наборы, применения, способы и соединения для применения в соответствии с изобретением (включая все варианты осуществления) пригодны для лечения меланомы. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что

эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1.

В других вариантах осуществления изобретения, комбинации, композиции, наборы, применения, способы и соединения для применения в соответствии с изобретением (включая все варианты осуществления) пригодны для лечения рака мочевого пузыря. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные

новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1.

В другом варианте осуществления изобретения, комбинации, композиции, наборы, применения, способы и соединения для применения в соответствии с изобретением (включая все варианты осуществления) пригодны для лечения рака легких (например, немелкоклеточной карциномы легких NSCLC). Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1.

В дальнейшем варианте осуществления изобретения, комбинации, композиции, наборы, применения, способы и соединения для применения в соответствии с изобретением (включая все варианты осуществления) пригодны для лечения пациентов со злокачественным новообразованием (например, пациентов, страдающих от (I) злокачественного новообразования желудочно-кишечного тракта, такого как рак пищевода, рак желудка, гепатоцеллюлярная карцинома, рак жёлчных протоков рак желчного пузыря, рак поджелудочной железы или рак толстой и прямой кишки, (II) меланомы, (III) рак мочевого пузыря или (IV) рак легких), которые не получали предварительного лечения по отношению к лечению с применением ингибитора контрольных точек или иммуномодулятора, то есть, например, пациентов, которые не получали предварительного лечения применительно к лечению с использованием антитела к PD-1). В одном варианте, указанное злокачественное новообразование характеризуется тем, что оно заякоривает мутированный/ инактивированный RNF43 или активирующий (е) R-спондин слитой (ые) транскрипт (ы). Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно

предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1.

В дальнейшем варианте осуществления изобретения, комбинации, композиции, наборы, применения, способы и соединения для применения в соответствии с изобретением (включая все варианты осуществления) пригодны для лечения пациентов со злокачественным новообразованием (например, пациентов, страдающих от (I) злокачественного новообразования желудочно-кишечного тракта, такого как рак пищевода, рак желудка, гепатоцеллюлярная карцинома, рак жёлчных протоков рак желчного пузыря, рак поджелудочной железы или рак толстой и прямой кишки, (II) меланома, (III) рак мочевого пузыря или (IV) рак легких), у которых происходит рецидив во время, в дальнейшем или после лечения с применением ингибитора контрольных точек или иммуномодулятора, то есть, например, пациентов, у которых происходит рецидив во время, в дальнейшем или после лечения с применением PD-1 антагониста, такого как антитело к PD-1. В одном варианте, указанное злокачественное новообразование характеризуется тем, что оно заякоривает мутированный/ инактивированный RNF43 или активирующий (е) R-спондин слитой (ые) транскрипт (ы). Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве

LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1.

Терапевтическая применимость комбинированной терапии в соответствии с настоящим изобретением может включать лечение первой линии, второй линии, третьей линии или дальнейших линий для пациентов (например, пациентов, страдающих от (I) злокачественного новообразования желудочно-кишечного тракта, такого как рак пищевода, рак желудка, гепатоцеллюлярную карциному, рак жёлчных протоков, рак желчного пузыря, рак поджелудочной железы или рак толстой и прямой кишки, (II) меланому, (III) рак мочевого пузыря или (IV) рак легких). Злокачественное новообразование может быть метастатическим, рекуррентным, рецидивирующим, резистентным или трудно поддающимся лечению к одному или нескольким противораковым лечениям. Таким образом, пациенты могут представлять собой пациентов, ранее не получавших лечение, или могут получать одно или несколько предшествующих противораковых терапий, которые полностью не излечили заболевание.

Пациенты с рецидивом и/или резистентностью к одному или нескольким противораковым средствам (*например*, однокомпонентным комбинациям, или стандартным химиотерапевтическим средствам) также поддаются комбинированному лечению в соответствии с настоящим изобретением, *например*, для циклов лечения второй или третьей линии (необязательно в другой комбинации с одним или несколькими противораковыми средствами), *например*, в качестве дополнительной комбинации или в качестве замещающего лечения.

Таким образом, некоторые из описанных комбинированных терапий согласно настоящему изобретению являются эффективными для лечения субъектов (например, пациентов, страдающих от (I) злокачественного новообразования желудочно-кишечного тракта, такого как рак пищевода, рак желудка, гепатоцеллюлярную карциному, рак жёлчных протоков рак желчного пузыря, рак поджелудочной железы или рак толстой и прямой кишки, (II) меланома, (III) рак мочевого пузыря или (IV) рак легких), у которых злокачественное новообразование является рецидивирующим, или у которых злокачественное новообразование становится резистентным к лекарственному средству или резистентным ко многим лекарственным средствам, или у которых злокачественное новообразование неудачно подвергалось одной, двум или более линиям моно- или комбинированной терапии с применением одного или нескольких противораковых средств (*например*, однокомпонентным комбинациям, или стандартным химиотерапевтическим средствам).

Злокачественное новообразование, которое изначально отвечало на противораковое средство, может рецидивировать и оно может становиться резистентным к противораковому средству, когда противораковое средство уже более не эффективно для лечения субъекта со злокачественным новообразованием, *например*, несмотря на введение повышенных доз противоракового средства. Злокачественные новообразования, которые развили резистентность к двум или более противораковым средствам, рассматриваются как с множественной лекарственной устойчивостью.

В предпочтительных вариантах осуществления, комбинации, композиции, наборы, применения, способы и соединения для применения в соответствии с изобретением (включая все варианты осуществления) пригодны для лечения пациентов со злокачественным новообразованием (например, пациентов, страдающих от (I) злокачественного новообразования желудочно-кишечного тракта, такого как рак пищевода, рак желудка, гепатоцеллюлярную карциному, рак жёлчных протоков рак желчного пузыря, рак поджелудочной железы или рак толстой и прямой кишки, (II) меланома, (III) рак мочевого пузыря или (IV) рак легких), которые ранее не подвергались лечению с применением одного или нескольких ингибиторов контрольной точки иммунного ответа и/или иммуномодуляторов, например, одного или нескольких PD-1 антагонистов, таких как антитело к PD1. В одном варианте, указанное злокачественное

новообразование характеризуется тем, что оно заякоривает мутированный/инактивированный RNF43 или активирующий (е) R-спондин слитой (ые) транскрипт (ы). Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве

5 LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением

10 LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают

15 лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные

20 новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что

25 эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1.

В дальнейшем предпочтительном варианте осуществления, комбинации, композиции, наборы, применения, способы и соединения для применения в

30 соответствии с изобретением (включая все варианты осуществления) пригодны для лечения пациентов со злокачественным новообразованием (например, пациентов, страдающих от (I) злокачественного новообразования желудочно-кишечного тракта, такого как рак пищевода, рак желудка, гепатоцеллюлярную карциному, рак жёлчных протоков рак желчного пузыря, рак поджелудочной

железы или рак толстой и прямой кишки, (II) меланома, (III) рак мочевого пузыря или (IV) рак легких), которые трудно поддаются лечению или резистентны к лечению с применением ингибиторов контрольных точек (например, к лечению с применением одного или нескольких ингибиторов контрольных точек иммунного ответа и/или иммуномодуляторов, например, одного или нескольких PD-1 антагонистов, таких как антитело к PD1). В одном варианте, указанное злокачественное новообразование характеризуется тем, что оно заякоривает мутированный/ инактивированный RNF43 или активирующий (е) R-спондин слитой (ые) транскрипт (ы). Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1.

В альтернативном предпочтительном варианте осуществления, комбинации, композиции, наборы, применения, способы и соединения для применения в соответствии с изобретением (включая все варианты осуществления) пригодны для лечения пациентов со злокачественным новообразованием, страдающие от

любой солидной опухоли, которая трудно поддается лечению или резистентна к

терапии с применением ингибиторов контрольных точек (например, к лечению с применением одного или нескольких ингибиторов контрольных точек

иммунного ответа и/или иммуномодуляторов, например, одного или нескольких PD-1 антагонистов, таких как антитело к PD1. В одном варианте, указанное

злокачественное новообразование характеризуется тем, что оно заякоривает мутированный/ инактивированный RNF43 или активирующий (е) R-спондин

слитой (ые) транскрипт (ы). Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к

PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно

предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что

эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что

эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно

предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно

предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно

предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают

лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Примеры солидных опухолей достаточно известны в данной области техники. Сходным образом, термины трудноподдающиеся лечению или резистентные также известны

5 квалифицированному специалисту в данной области техники и применяются в настоящей заявке в соответствии с определениями, используемыми в данной области техники.

Опухоли, которые трудно поддаются лечению или резистентны к терапиям с применением ингибиторов контрольных точек, также в настоящей заявке обозначаются как “опухоли, резистентные к иммунотерапии” или “резистентные к иммунотерапии не-Т-клеточные воспаленные опухоли”. В последнее время было установлено, что в микроокружении многих опухолей может быть обнаружена высокая экспрессия специфических иммунных клеток. В данной области техники это обозначается как “Т-клеточный воспаленный фенотип” и

10 было установлено, что этот фенотип коррелирует с тем, как эти опухоли поддаются лечению с применением множественных иммунотерапий, включая терапевтические вакцины и антитела, блокирующие контрольные точки, такие как анти-PD-1 антитела. С другой стороны, в определенных опухолях отсутствует такая экспрессия иммунных клеток в их микроокружении. Эти

15 опухоли обозначаются в данной области техники как “не-Т-клеточные воспаленные опухоли” и было установлено, что для них отсутствует клиническое преимущество от применения иммунотерапии, в частности с анти-PD-1 антителами. В соответствии с настоящим изобретением, последний тип опухолей с активной передачей сигналов Wnt является предпочтительной

20 мишенью для заявляемой комбинированной терапии. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением

25 LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-1 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают

30

лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-2 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#1 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#5 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1. Является особенно предпочтительным, что эти злокачественные новообразования подвергают лечению с применением LRP5/LRP6#6 в качестве LRP5/LRP6 антагониста и PD1-3 в качестве антитела к PD-1.

Объем настоящего изобретения не ограничивается специфическими вариантами осуществления, описанными в настоящей заявке. Для квалифицированного специалиста в данной области техники могут быть понятными различные модификации дополнительно к тем, которые описаны в настоящей заявке, на основании данного раскрытия. Такие модификации охватываются объемом пунктов приложенной формулы изобретения.

Все патентные заявки, процитированные в настоящей заявке, таким образом полностью включены путем ссылки.

Пример 1

Противоопухолевая активность иллюстративного LRP5/LRP6 в комбинации с мышинным антителом к PD-1, на подкожной сингенной мышинной модели, имеющей происхождение из клеточной линии рака молочной железы EMT6 у Balb/c мышей

Эффективность иллюстративного LRP5/6 антагониста тестировали на подкожной клеточной линии, имеющей происхождение из сингенной модели рака молочной железы у мышей (EMT6) в качестве монотерапии и в комбинации с мышинным антителом к PD-1.

В этом исследовании использовали мышей BALB/cJBomTac. 1×10^6 ЕМТ6 клеток рака молочной железы инъецировали каждой мыши для развития опухоли. Объем опухоли измеряли по меньшей мере три раза в неделю с помощью штангенциркуля. Лечение начинали, когда опухоли достигали
 5 среднего объема опухоли приблизительно 200 мм^3 и останавливали через 30 дней.

Десять животных, несущих опухоль, лечили с применением иллюстративного LRP5/LRP6 внутривенно (в/в) дважды в неделю и два раза в неделю в/б с применением иллюстративного мышинового PD-1 антитела или комбинации обоих
 10 соединений. Десять животных использовали в группе с наполнителем / изотипной контрольной группе. Животных умертвляли после окончания исследования по этическим соображениям на основании веса опухоли (опухоль $\geq 1,5 \text{ см}^3$).

Клетки

ЕМТ6 клетки получали от ATCC (номер каталога ATCC[®] CRL2755[™]). Главный банк клеток (МСВ) и рабочий банк клеток (WCB) это утверждали. Клетки культивировали в T175 колбах для тканевых культур при 37°C и 5 % CO_2 . Используемая среда представляла собой Waymouth's MB 752/1, дополненную с
 15 помощью 15 % фетальной телячьей сыворотки (HyClone[®] Fetal Bovine Serum Characterized; № каталога SH30071.03; от Thermo Scientific), и 2 mM L-Глутамина (L-Глутамин 200 mM (100 x); исх. 25030-024; от Gibco by Life Technologies). Культуры расщепляли каждые два-три дня при соотношении 1:10/1:15.

Мыши

Мыши представляли собой мыши BALB/cJBomTac в возрасте 7-8 недель, полученные от Taconic, Denmark. После перевозки в виварий, мышам предоставляли возможность адаптироваться к условиям окружающей среды по
 25 меньшей мере в течение 5 дней перед их использованием в экспериментах. Их содержали в клетках Macrolon[®] типа III в группах по десять животных в стандартизированных условиях при $21,5 \pm 1,5^\circ\text{C}$ и $55 \pm 10\%$ влажности.
 30 Стандартизированное облученное питание (PROVIMI KLIBA) и автоклавированную водопроводную воду обеспечивали *ad libitum*. Микрочипы, имплантированные подкожно под анестезией изофлураном, использовали для идентификации каждой мыши. Карты на клетках показывали номер

исследования, номер животного, соединение и уровень дозы, путь введения, а также схему, оставшуюся для животных для всего исследования.

Введение тестируемых соединений

LRP5LRP/6 антагонист суспендировали в гистидиновом буфере pH 6,5 и вводили в/в при объеме введения 10 мл/кг на мышь два раза в неделю в дозе 10 мг/кг в течение первых двух недель.

PD-1 антитело разводили в PBS и инъектировали внутривентрально в объеме 10 мл/кг на мышь два раза в неделю в дозе 10 мг/кг до окончания исследования.

Наблюдение за ростом опухоли и прогрессирование заболевания

Диаметр опухоли измеряли три раза в неделю (понедельник, среда и пятница) с помощью штангенциркуля. Объем каждой опухоли [в мм³] рассчитывали согласно формуле “объем опухоли = длина*диаметр²*π/6”. Для наблюдения за побочными эффектами лечения, мышей тщательно осматривали ежедневно для выявления патологических изменений и вес тела определяли каждый день. Животных умерщвляли после окончания исследования. Животных с некротическими опухолями или размерами опухолей, превышающих 1500 мм³, умерщвляли раньше во время исследований по этическим соображениям.

Результаты

Лечение ETM6 опухолей с применением мышиного антитела к PD-1 приводило к умеренному ингибированию роста опухоли. Комбинация LRP5/LRP6 антагониста с применением PD-1 антитела приводила к существенному увеличению эффективности по сравнению с введениями отдельно взятых средств, включая регрессии опухоли у 4 из 9 мышей по сравнению с монотерапиями, когда регрессию опухоли наблюдали только у одной из 10 мышей. Результаты, демонстрирующие синергетический эффект комбинированного введения по сравнению с введением отдельно взятых средств, представлены на Фигуре 1. Увеличенное выживание, описанное в Таблице 5, в виде интервала в дни от начала лечения до времени, когда объем опухоли достигал по меньшей мере 500 мм³, увеличивалось при применении комбинации LRP5/LRP6 антагониста с PD-1 антителом по сравнению с монотерапиями.

В таблице 5 представлена *противоопухолевая* активность иллюстративного LRP5/LRP6 антагониста в качестве монотерапии и в комбинации с мышиным

антителом к PD-1. Среднее значение относится к интервалу (дни) от начала лечения до времени, когда объем опухоли достигал по меньшей мере 500 мм³.

Таблица 5:

Среднее (дни) Время до ≥ 500 мм³ объема опухоли	Опухоль LRP5/6 Начало лечения: средний объем опухоли 200 мм³
Изотип	9
Анти-PD-1	19,5
LRP антагонист	12
Комбинация	27,5

5 Кроме того, осуществляли гистологический анализ образцов от мышей, указывающий на уменьшение размеров опухоли (то есть, что объем опухоли после окончания исследования становится меньше по сравнению с началом лечения). В частности, опухоли собирали из всех групп и фиксировали в 10% NBF (раствор формалина, нейтральный забуференный, 10%) для FFPE (зафиксированный в формалине и залитый парафином). Осуществляли гистоморфологический анализ осуществляли на FFPE опухолевых тканях с помощью окрашивания гематоксилином-эозином (HE) для морфологической оценки. Отсутствие опухоли после окончания исследования на ткани из участка, в котором раньше была опухоль, было описано только в группе, получавшей комбинацию (3 из 9 мышей), указывая на то, что патологический полный ответ может быть достигнут только при лечении с применением комбинации LRP5/6 антагониста с PD-1 антителом по сравнению с лечением отдельно взятых средств (Таблица 6).

В Таблице 6 представлена *противоопухолевая* активность иллюстративного LRP5/6 антагониста в качестве монотерапии и в комбинации с мышинным антителом к PD-1. Полный ответ после окончания исследования относится к отсутствию остатков злокачественного новообразования при гистологическом исследовании на ткани, которая ранее имела опухоль, по сравнению с частичными ответами, где обнаруживали опухолевые клетки.

Таблица 6:

Гистологический анализ ответов (окончание исследования)	Полные ответы	Частичные ответы
Изотип	0/9	1/9
Анти-PD-1	0/10	1/10
LRP5/6 антагонист	0/10	0/10
Комбинация	3/9	1/9

Пример 2

Увеличение инфильтрации опухоли Т-клетками при введении иллюстративного LRP5/LRP6 антагониста в комбинации с мышинным антителом к PD-1, на подкожной сингенной мышинной модели, имеющей происхождение из клеточной линии рака молочной железы EMT6 у Balb/c мышей

Способность индуцировать инфильтрацию Т-клеток в опухоли иллюстративного LRP5/LRP6 антагониста тестировали на подкожной клеточной линии, имеющей происхождение из сингенной модели рака молочной железы у мышей (EMT6) в качестве монотерапии и в комбинации с мышинным антителом к PD-1.

CD8 положительные Т клетки анализировали в опухолях в день 16 от мышей, леченных с применением монотерапии и в комбинации с мышинным антителом к PD-1, как описано в Примере 1. Опухоли собирали из всех групп и фиксировали в 10% NBF для FFPE тканей, и осуществляли иммуногистохимию (ИHC) со стандартными протоколами, используя крысиное моноклональное антитело к CD8a (53-6.7, eBioscience™, рабочее разведение 1:200) для обнаружения CD8 положительных Т-клеток. Количественную оценку осуществили, используя HALO™ Image Analysis Software, и определяли уровень значимости, используя программное обеспечение Graph Pad Prism. Скорректированное р значение меньше 0,05 рассматривали как демонстрирующее статистически значимое отличие между группами. Результаты представлены на Фигуре 2.

Пример 3**Влияние комбинации LRP5/LRP6 антагониста с антителом к PD-1 человека в 3D сфероидов**

Для дальнейшей оценки эффекта комбинации анти-LRP5/LRP6 антагониста (LRP5/LRP6#5, как определено выше, также представленного в виде SEQ ID NO:65) с антителом к PD-1 человека в соответствии с изобретением (PD1-3, как определено в Таблице 3 выше) в Wnt-направляемой иммунной супрессией, использовали совместно культивируемые *vitro* опухолевые клетки, активированные PBMC человека и Wnt лиганд (Wnt3a) и измеряли жизнеспособность опухолевых клеток в качестве регистрируемой величины.

Для этого, опухолевые клетки (NCI-H1437), стабильно трансфектированные для экспрессии красного флуоресцентного белка (mKate2) и культивируемые в 3D в виде сфероидов с активированными PBMC человека и Wnt3a лигандом (0,5 мкг/мл) лиганд, обрабатывали с помощью 1000 нМ LRP5/LRP6 антагониста и 200 нМ антитела к PD-1, и измеряли жизнеспособность клеток в указанные временные точки после добавления соединения.

3.1 Схема исследования

Для создания исследования совместного культивирования *in vitro* с опухолевыми клетками (NCI-H1437 клеточная линия немелкоклеточного рака легких) и PBMC человека, NCI-H1437 клетки стабильно трансфектировали для экспрессии красного флуоресцентного белка (mKate2) и культивировали в 3D в виде сфероидов. Для проведения исследования совместного культивирования, NCI-H1437mKate2 клетки высевали в сфероидный микропланшет на 96 лунок (5000 клеток на лунку). NCI-H1437mKate2 клетки высевали в объеме 200 мкл RPMI-1640 + среда Glutamax (с 10% FCS_{hi}) на лунку. Через 4 дня образовывались сфероиды и 100 мкл среды удаляли из каждой лунки и 100 мкл RPMI1640 среды + Glutamax (+10%FCS_{hi}) с или без 3×10^5 PBMC (активированных в течение 72 часов с применением анти-CD3 и анти-CD28 антител (1мкг/мл)) добавляли в соответствующие лунки.

Сфероиды с и без PBMC подвергали воздействию либо анти-LRP5/LRP6 антагониста, Wnt3a, антитела к PD-1 человека или изотипа антитела к PD-1 человека (в качестве контроля), в виде монотерапии или в комбинациях.

Соединения добавляли только один раз, в день 0 (4 дня после высевания опухолевых клеток в микропланшеты).

Через 12 часов после добавления соединений, осуществляли первое измерение mKate2 флуоресценции и использовали для определения жизнеспособности клеток опухолевых сфероидов. Эту временную точку использовали в качестве исходной (100%), с которой сравнивали последующие измерения (осуществленные во временные интервалы между 12 и 48 часами). Измеряли флуоресценцию mKate2 (Возбуждение: 590 нм; Испускание 635 нм), используя EnVision 2100 MULTILABEL READER (PerkinElmer). В эксперименте, сфероиды с PBMC и с или без лечения прогоняли в шести биологических повторах до дня два, пяти биологических повторах в день 3 и 4, и четырех биологических повторах в день 7 и 8.

Реагенты и материалы для культивирования тканей

- PBS (Gibco; 14190-094)
- Трипсин EDTA (Gibco; 043-90317FU)
- Ultra-LEAF™ Очищенное анти-человеческое CD3 Антитело (Biolegend; 300332)
- Ultra-LEAF™ Очищенное анти-человеческое CD28 Антитело (Biolegend; 302934)
- RPMI 1640+Glutamax (Gibco; 61870-010)
- RPMI 1640 (Gibco; A10491-01)
- FCS (HyClone; SH30084.03)
- WNT3a (R&D 5036-WN/CF; партия SVH181610A)
- StemCell донор: B001000527; партия:1812180182

3.2 Культура NCI-H1437MKATE2

NCI-H1437mKate2 клетки культивировали, используя RPMI 1640 (Gibco; A10491-01) + 10% FCS_{hi}. Клетки разводили один раз в неделю (1:10) и среду заменяли дополнительное время. Для перевивания, клетки отсоединяли от колбы для культивирования клеток, используя Трипсин EDTA в PBS (Gibco; 043-90317FU): Среда удаляли и добавляли 5 мл Трипсина приблизительно в течение 5 минут при 37°C. Каждую минуту, осуществляли визуальный контроль для подтверждения того, что клетки уже отсоединились. После отсоединения,

раствор клетки /трипсин смешивали с 45 мл культуральной среды, содержащей 10% FCS_{hi}, и центрифугировали при 400xg в течение 5 минут при комнатной температуре. Клеточный осадок после центрифугирования ресуспендировали в подходящем количестве среды и либо подсчитывали для исследования в совместном культивировании или разводили 1:10 для культивирования. Клетки культивировали при 37°C и 5% CO₂.

3.3 Размораживание PBMC и активация PBMC

Один флакон с PBMC (StemCell донор: B001000527; партия: 1812180182) размораживали при КТ до тех пор, пока не оставалось только небольшие кусочки льда, затем вливали в 50 мл пробирку фирмы Falcon с 20 мл холодной (2-8°C) RPMI-1640+Glutamax. После вихревого перемешивания, пробирки Falcon центрифугировали в течение 5 минут при 400xg. Затем супернатант отбрасывали и осадок PBMC после центрифугирования ресуспендировали в 1-2 мл среды для анализа (RPMI1640+Glutamax+10%FCS_{hi}).

Клетки подсчитывали и активировали с применением анти-CD3 и анти-CD28 антител (1 мкг/мл) в течение 72 часов (5×10^6 клеток/мл). Через 72 часа активированные PBMC центрифугировали при 400xg в течение 5 минут. Клеточный осадок после центрифугирования ресуспендировали в 1-2 мл RPMI-1640 + среда Glutamax (с 10% FCS_{hi}). В завершение, клетки подсчитывали и разводили до 3×10^6 клеток/мл для исследования совместного культивирования.

3.4 Изменение жизнеспособности сфероидов: измерение и анализ

EnVision 2100 MULTILABEL READER (PerkinElmer) использовали для определения изменения жизнеспособности клеток NCI-H1437mKate2 сфероидов. Измеряли флуоресценцию mKate2 при возбуждении 590 нм и испускании 635 нм и высоте измерения 4,1 мм. Для анализа, вычитали среднее значение фона (только среда) из измерений и рассчитывали процент изменений для каждой лунки, сравнивая новое измерение лунки (минус фон) с исходным измерением (12 часов после добавления соединений и PBMC). Представленное среднеквадратичное отклонение представляет собой среднеквадратичное отклонение в процентах процентного изменения в соответствующую леченную и временную точку. Полученные процентные изменения значений жизнеспособности переносили на программное обеспечение Graph Pad и

анализировали путем применения двухфакторного дисперсионного анализа в комбинации с критерием множественного сравнения Бонферрони для определения статистической достоверности.

5 3.5 Статистический анализ

Определяли уровень достоверности, используя программное обеспечение Graph Pad. (Скорректированное) р значение меньше 0,05 для *, 0,01 для **, 0,001 для *** и <0,0001 для **** считали как демонстрирующее статистически достоверное отличие между группами.

10

3.6 Результаты

Эффект лечения с применением Wnt3a лиганда, LRP5/LRP6 антагониста или антитела к PD-1 человека на жизнеспособность опухолевых сфероидов, совместно культивированных с активированными PMBC, представлен на Фигуре 3А. Wnt3a лечение приводит к существенному увеличению жизнеспособности опухолевых сфероидов (ингибирование PMBC опосредованной гибели опухолевых клеток), обнаруживаемое в любую временную точку в интервале от 4 и 8 дня. Лечение с применением LRP5/LRP6 антагониста или антитела к PD-1 человека не имело существенного влияния на жизнеспособность опухолевых сфероидов, по сравнению с изотипным лечением (контроль).

20

Эффект лечения с применением LRP5/LRP6 антагонист в виде монотерапии или в комбинации с антителом к PD-1 человека в присутствии Wnt3a лиганда представлен на Фигуре 3В. Лечение с применением LRP5/LRP6 антагониста в виде монотерапии подавляет Wnt3a опосредованное увеличение жизнеспособности опухолевых сфероидов (существенный эффект описан между 4 и 8 днями после начала лечения, Tum/PBMC 1:3+LRP5/6+WNT3a+iso отн. Tum/PBMC 1:3+iso). Следовательно, лечение с применением LRP5/LRP6 антагониста в присутствии Wnt3a лиганда восстанавливает PMBC опосредованное ингибирование жизнеспособности опухолевых сфероидов.

30

Комбинированное лечение с применением LRP5/LRP6 антагониста и антитела к PD-1 человека приводит к существенному снижению жизнеспособности опухолевых сфероидов по сравнению с монотерапией LRP5/LRP6 антагонистом (s существенный эффект описан между 7 и 8 днями после начала лечения,

Tum/PBMC 1:3+LRP5/6+WNT3a+PD1 отн. Tum/PBMC 1:3+LRP5/6+WNT3a+iso).

Таким образом, комбинированное лечение с применением LRP5/LRP6 антагониста и антитела к PD-1 человека приводит к усилению PBMC-опосредованной гибели опухолевых клеток, по сравнению с применением

5 LRP5/LRP6 антагониста в виде монотерапии.

3.7 Обсуждение

Эти результаты свидетельствуют о том, что блокировка LRP5 и LRP6 в комбинации с PD-1 антагонистом приводит к PBMC-опосредованному
10 уничтожению опухолевых сфероидов. Эти данные совместно с данными, представленными в Примерах 1 и 2, свидетельствуют о том, что комбинированная терапия в соответствии с изобретением имеет эффективную противоопухолевую активность.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, где указанный способ включает введение полипептида, способного специфически связываться с LRP5 и LRP6, в комбинации с PD-1 антителом пациенту, который в этом нуждается, где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, выбирают из группы, включающей

(I) полипептид, включающий первый одиночный вариабельный домен иммуноглобулина (ISVD) (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(II) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(III) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

- 5 (IV) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

- 10 второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

- 15 (V) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

- 20 второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и

- 25 (VI) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

- 30 второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и где PD-1 антитело выбирают из группы, включающей

(I) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:1 (HCDR1), SEQ ID NO:2 (HCDR2) и SEQ ID NO:3 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:4 (LCDR1), SEQ ID NO:5 (LCDR2) и SEQ ID NO:6 (LCDR3);

(II) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:7 (HCDR1), SEQ ID NO:8 (HCDR2) и SEQ ID NO:9 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:10 (LCDR1), SEQ ID NO:11 (LCDR2) и SEQ ID NO:12 (LCDR3);

и

(III) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:13 (HCDR1), SEQ ID NO:14 (HCDR2) и SEQ ID NO:15 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:16 (LCDR1), SEQ ID NO:17 (LCDR2) и SEQ ID NO:18 (LCDR3).

2. Способ лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, включающий введение пациенту, который в этом нуждается, терапевтически эффективного количества полипептида, способного специфически связываться с LRP5 и LRP6, и терапевтически эффективного количества PD-1 антитела, где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, выбирают из группы, включающей

(I) полипептид, включающий первый одиночный вариабельный домен иммуноглобулина (ISVD) (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(II) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(III) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYDY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(IV) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYDY (= SEQ ID NO:54);

(V) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и
 второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

5 CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и

(VI) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие
 CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

10 CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

15 CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и где PD-1 антитело выбирают из группы, включающей:

(I) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие
 аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:1
 (HCDR1), SEQ ID NO:2 (HCDR2) и SEQ ID NO:3 (HCDR3), и CDR
 20 легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность,
 представленную в SEQ ID NO:4 (LCDR1), SEQ ID NO:5 (LCDR2) и
 SEQ ID NO:6 (LCDR3);

(II) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие
 аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:7
 (HCDR1), SEQ ID NO:8 (HCDR2) и SEQ ID NO:9 (HCDR3), и CDR
 25 легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность,
 представленную в SEQ ID NO:10 (LCDR1), SEQ ID NO:11 (LCDR2) и
 SEQ ID NO:12 (LCDR3);

и

30 (III) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие
 аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID
 NO:13 (HCDR1), SEQ ID NO:14 (HCDR2) и SEQ ID NO:15 (HCDR3), и
 CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность,

представленную в SEQ ID NO:16 (LCDR1), SEQ ID NO:17 (LCDR2) и SEQ ID NO:18 (LCDR3).

3. PD-1 антитело для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, где указанный способ включает введение PD-1 антитела в комбинации с полипептидом, способным специфически связываться с LRP5 и LRP6, пациенту, который в этом нуждается, где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, выбирают из группы, включающей

(I) полипептид, включающий первый одиночный вариабельный домен иммуноглобулина (ISVD) (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(II) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(III) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

- 5 (IV) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

- 10 второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

- 15 (V) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

- 20 второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и

- 25 (VI) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

- 30 второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и где PD-1 антитело выбирают из группы, включающей

(I) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:1 (HCDR1), SEQ ID NO:2 (HCDR2) и SEQ ID NO:3 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:4 (LCDR1), SEQ ID NO:5 (LCDR2) и SEQ ID NO:6 (LCDR3);

(II) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:7 (HCDR1), SEQ ID NO:8 (HCDR2) и SEQ ID NO:9 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:10 (LCDR1), SEQ ID NO:11 (LCDR2) и SEQ ID NO:12 (LCDR3);

и

(III) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:13 (HCDR1), SEQ ID NO:14 (HCDR2) и SEQ ID NO:15 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:16 (LCDR1), SEQ ID NO:17 (LCDR2) и SEQ ID NO:18 (LCDR3).

4. Применение полипептида, способного специфически связываться с LRP5 и LRP6, для приготовления фармацевтической композиции для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, применяют в комбинации с PD-1 антителом, где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, выбирают из группы, включающей

(I) полипептид, включающий первый одиночный вариабельный домен иммуноглобулина (ISVD) (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

- 5 (II) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

- 10 второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

- 15 (III) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

- 20 второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

- (IV) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

25 CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

- второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

30 CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

- (V) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

5 CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и

(VI) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

10 CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

15 CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и где PD-1 антитело выбирают из группы, включающей

(I) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:1 (HCDR1), SEQ ID NO:2 (HCDR2) и SEQ ID NO:3 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:4 (LCDR1), SEQ ID NO:5 (LCDR2) и SEQ ID NO:6 (LCDR3);

20

(II) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:7 (HCDR1), SEQ ID NO:8 (HCDR2) и SEQ ID NO:9 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:10 (LCDR1), SEQ ID NO:11 (LCDR2) и SEQ ID NO:12 (LCDR3);

25

30

и

(III) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:13 (HCDR1), SEQ ID NO:14 (HCDR2) и SEQ ID NO:15 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность,

представленную в SEQ ID NO:16 (LCDR1), SEQ ID NO:17 (LCDR2) и SEQ ID NO:18 (LCDR3).

5. Применение PD-1 антитела для приготовления фармацевтической композиции для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования, где PD-1-антитело применяют в комбинации с полипептидом, способным специфически связываться с LRP5 и LRP6; где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, выбирают из группы, включающей

(I) полипептид, включающий первый одиночный вариабельный домен иммуноглобулина (ISVD) (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(II) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(III) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYDY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

- 5 (IV) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

- 10 второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

- 15 (V) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

- 20 второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и

- 25 (VI) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

- 30 второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и где PD-1 антитело выбирают из группы, включающей

(I) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:1 (HCDR1), SEQ ID NO:2 (HCDR2) и SEQ ID NO:3 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:4 (LCDR1), SEQ ID NO:5 (LCDR2) и SEQ ID NO:6 (LCDR3);

(II) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:7 (HCDR1), SEQ ID NO:8 (HCDR2) и SEQ ID NO:9 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:10 (LCDR1), SEQ ID NO:11 (LCDR2) и SEQ ID NO:12 (LCDR3),

и

(III) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:13 (HCDR1), SEQ ID NO:14 (HCDR2) и SEQ ID NO:15 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:16 (LCDR1), SEQ ID NO:17 (LCDR2) и SEQ ID NO:18 (LCDR3).

6. Фармацевтическая композиция, включающая:

полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6; PD-1 антитело; и, необязательно, один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, наполнителей и/или вспомогательных веществ;

где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, выбирают из группы, включающей

(I) полипептид, включающий первый одиночный вариабельный домен иммуноглобулина (ISVD) (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(II) полипептид, включающий первый ISVD (a), включающий следующие CDR последовательности:

5 CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

10 CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(III) полипептид, включающий первый ISVD (a), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

15 CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

20 CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

(IV) полипептид, включающий первый ISVD (a), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

25 CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

30 (V) полипептид, включающий первый ISVD (a), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

5 и

(VI) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

10 CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

15 и где PD-1 антитело выбирают из группы, включающей

(I) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:1 (HCDR1), SEQ ID NO:2 (HCDR2) и SEQ ID NO:3 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:4 (LCDR1), SEQ ID NO:5 (LCDR2) и SEQ ID NO:6 (LCDR3);

(II) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:7 (HCDR1), SEQ ID NO:8 (HCDR2) и SEQ ID NO:9 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:10 (LCDR1), SEQ ID NO:11 (LCDR2) и SEQ ID NO:12 (LCDR3);

и

(III) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:13 (HCDR1), SEQ ID NO:14 (HCDR2) и SEQ ID NO:15 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:16 (LCDR1), SEQ ID NO:17 (LCDR2) и SEQ ID NO:18 (LCDR3).

30

7. Фармацевтическая композиция по пункту 6 для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования.

5

8. Набор, включающий в одном или нескольких контейнерах

- первую фармацевтическую композицию или дозированную форму, включающую полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, и, необязательно, один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, наполнителей и/или вспомогательных веществ;
- вторую фармацевтическую композицию или дозированную форму, включающую PD-1 антитело и, необязательно, один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, наполнителей и/или вспомогательных веществ;
- и необязательно листок-вкладыш в упаковке, включающий напечатанные инструкции;

где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, выбирают из группы, включающей

- (I) полипептид, включающий первый одиночный вариабельный домен иммуноглобулина (ISVD) (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNDY (= SEQ ID NO:51);

- (II) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNYDY (= SEQ ID NO:51);

(III) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:49)

CDR2: AISWSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:50)

CDR3: SPIPYGSLRRRNNYDY (= SEQ ID NO:51);

(IV) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: TYTVG (= SEQ ID NO:40)

CDR2: AIRRRGSSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:41)

CDR3: DTRTVALLQYRYDY (= SEQ ID NO:42), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

(V) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:43)

CDR2: AIRRSGRRTYYADSVKG (= SEQ ID NO:44)

CDR3: ARRVRSSSTRYNTGTWWWEY (= SEQ ID NO:45), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

CDR2: AISWRSGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и

(VI) полипептид, включающий первый ISVD (а), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: RYTMG (= SEQ ID NO:46)

CDR2: AIVRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:47)

CDR3: DRRGRGENYILLYSSGRYEY (= SEQ ID NO:48), и

второй ISVD (б), включающий следующие CDR последовательности:

CDR1: SYAMG (= SEQ ID NO:52)

5 CDR2: AISWRSGGSTYYADSVKG (= SEQ ID NO:53)

CDR3: DPRGYGVAYVVSAYYEY (= SEQ ID NO:54);

и где PD-1 антитело выбирают из группы, включающей

10 (I) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:1 (HCDR1), SEQ ID NO:2 (HCDR2) и SEQ ID NO:3 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:4 (LCDR1), SEQ ID NO:5 (LCDR2) и SEQ ID NO:6 (LCDR3);

15 (II) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:7 (HCDR1), SEQ ID NO:8 (HCDR2) и SEQ ID NO:9 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:10 (LCDR1), SEQ ID NO:11 (LCDR2) и SEQ ID NO:12 (LCDR3),

20 и

(III) антитело к PD1, включающее CDR тяжелой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:13 (HCDR1), SEQ ID NO:14 (HCDR2) и SEQ ID NO:15 (HCDR3), и CDR легкой цепи, включающие аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:16 (LCDR1), SEQ ID NO:17 (LCDR2) и SEQ ID NO:18 (LCDR3).

9. Набор по пункту 8 для применения в способе лечения и/или предотвращения гиперпролиферативного заболевания, предпочтительно злокачественного новообразования.

10. Полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, для применения по пункту 1, способ лечения по пункту 2, PD-1 антитело для применения по пункту 3, применение по пункту 4 или пункту 5,

фармацевтическая композиция по пункту 6 или 7, или набор по пункту 8 или 9,

где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, выбирают из группы, включающей

- 5 (I) полипептид, включающий первый ISVD, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:58, и второй ISVD, включающий последовательность, представленную в SEQ ID NO:61;
- 10 (II) полипептид, включающий первый ISVG, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:59, и второй ISVD, включающий последовательность, представленную в SEQ ID NO:61;
- 15 (III) полипептид, включающий первый ISVD, включающий последовательность, представленную в SEQ ID NO:60, и второй ISVD, включающий последовательность, представленную в SEQ ID NO:61;
- (IV) полипептид, включающий первый ISVD, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:58, и второй ISVD, включающий последовательность, представленную в SEQ ID NO:62;
- 20 (V) полипептид, включающий первый ISVD, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:59, и второй ISVD, включающий последовательность, представленную в SEQ ID NO:62;

и

- 25 (VI) полипептид, включающий первый ISVD, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:60, и второй ISVD, включающий последовательность, представленную в SEQ ID NO:62;

предпочтительно, где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, дополнительно включает Alb11 домен, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:63.

11. Полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, для применения по пункту 1, способ лечения по пункту 2, PD-1 антитело для

применения по пункту 3, применение по пункту 4 или пункту 5, фармацевтическая композиция по пункту 6 или 7, или набор по пункту 8 или 9,

где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, включает полипептид, включающий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, включающей SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO:65 и SEQ ID NO:66.

12. Полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, для применения по пункту 1, 10 или 11, способ лечения по пункту 2, 10 или 11, PD-1 антитело для применения по пункту 3, 10 или 11 применение по пункту 4, 5, 10 или 11, фармацевтическая композиция по пункту 6, 7, 10 или 11 или набор по пункту 8, 9, 10 или 11,

где антитело к PD1 выбирают из группы, включающей

(I) антитело, имеющее переменный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:19, и переменный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:20;

(II) антитело, имеющее переменный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:21, и переменный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:22;

(III) антитело, имеющее переменный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:23, и переменный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:24;

(IV) антитело, имеющее переменный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:25, и переменный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:26;

и

- (V) антитело, имеющее переменный домен тяжелой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:27, и переменный домен легкой цепи, включающий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:28.

13. Полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, для применения по пункту 1, 10 или 11, способ лечения по пункту 2, 10 или 11, PD-1 антитело для применения по пункту 3, 10 или 11, применение по пункту 4, 5, 10 или 11, фармацевтическая композиция по пункту 6, 7, 10 или 11, или набор по пункту 8, 9, 10 или 11, где PD-1 антитело выбирают из группы, включающей

- (I) антитело, имеющее тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 30;

- (II) антитело, имеющее тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 31 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 32;

- (III) антитело, имеющее тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 33 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 34;

- (IV) антитело, имеющее тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 35 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 36;

и

- (V) антитело, имеющее тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 37 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 38.

14. Полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, для применения по пункту 1, 10, 11, 12, или 13, способ лечения по пункту 2, 10, 11, 12, или 13, PD-1 антитело для применения по пункту 3, 10, 11, 12 или 13, применение по пункту 4, 5, 10, 11, 12, или 13, или набор для применения по пункту 9, 10, 11, 12, или 13, где PD-1 антитело вводят одновременно, конкурентно, последовательно, одно за другим, попеременно или раздельно с полипептидом, способным специфически связываться с LRP5 и LRP6.

15. Полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, для применения по пункту 1, 10, 11, 12, или 13, способ лечения по пункту 2, 10, 11, 12, или 13, PD-1 антитело для применения по пункту 3, 10, 11, 12, или 13, применение по пункту 4, 5, 10, 11, 12, или 13, или набор для применения по пункту 9, 10, 11, 12, или 13, где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, и PD-1 антитело вводят в соответствии со следующей схемой лечения:

(I) первый период лечения, где полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, и PD-1 антитело вводят одновременно или конкурентно, предпочтительно один раз в три или четыре недели;

и

(II) второй период лечения, где вводят только PD-1 антитело, а полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, не вводят, предпочтительно, где PD-1 антитело вводят один раз в три или четыре недели.

16. Полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, способ лечения, PD-1 антитело для применения, применение или набор для применения по пункту 15, где первый период лечения составляет 3 или 6 недель, когда полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, и PD-1 антитело вводят один раз в три недели; или

первый период лечения составляет 4 или 8 недель, когда полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, и PD-1 антитело вводят один раз в четыре недели.

- 5 17. Полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, для применения, способ лечения, PD-1 антитело для применения, применение, фармацевтическая композиция для применения или набор для применения по пункту 14, 15 или 16,
где введение представляет собой внутривенное введение.
- 10 18. Полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, для применения по одному из пунктов 1, 10 - 17, способ лечения по одному из пунктов 2, 10 - 17, PD-1 антитело для применения по одному из пунктов 3, 10 - 17, применение по одному из пунктов 4, 5, 10 - 17, фармацевтическая
15 композиция для применения по одному из пунктов 7, 10 - 17, или набор для применения по одному из пунктов 9 - 17,
где гиперпролиферативное заболевание, подвергаемое лечению, представляет собой злокачественное новообразование, выбранное из группы, включающей злокачественные новообразования желудочно-
20 кишечного тракта, меланомные опухоли, рак мочевого пузыря и рак легких (*например*, NSCLC).
- 25 19. Полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, для применения, способ лечения, PD-1 антитело для применения, применение, фармацевтическая композиция для применения, или набор для применения по пункту 18,
где злокачественное новообразование желудочно-кишечного тракта представляет собой рак пищевода (*например*, рак пищевода-желудочного
перехода), рак желудка, гепатоцеллюлярную карциному, рак жёлчных протоков (*например*, холангиокарциному), рак желчного пузыря, рак
30 поджелудочной железы или рак толстой и прямой кишки (CRC).
20. Полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, для применения, способ лечения, PD-1 антитело для применения, применение,

фармацевтическая композиция для применения, или набор для применения по пункту 18 или 19,

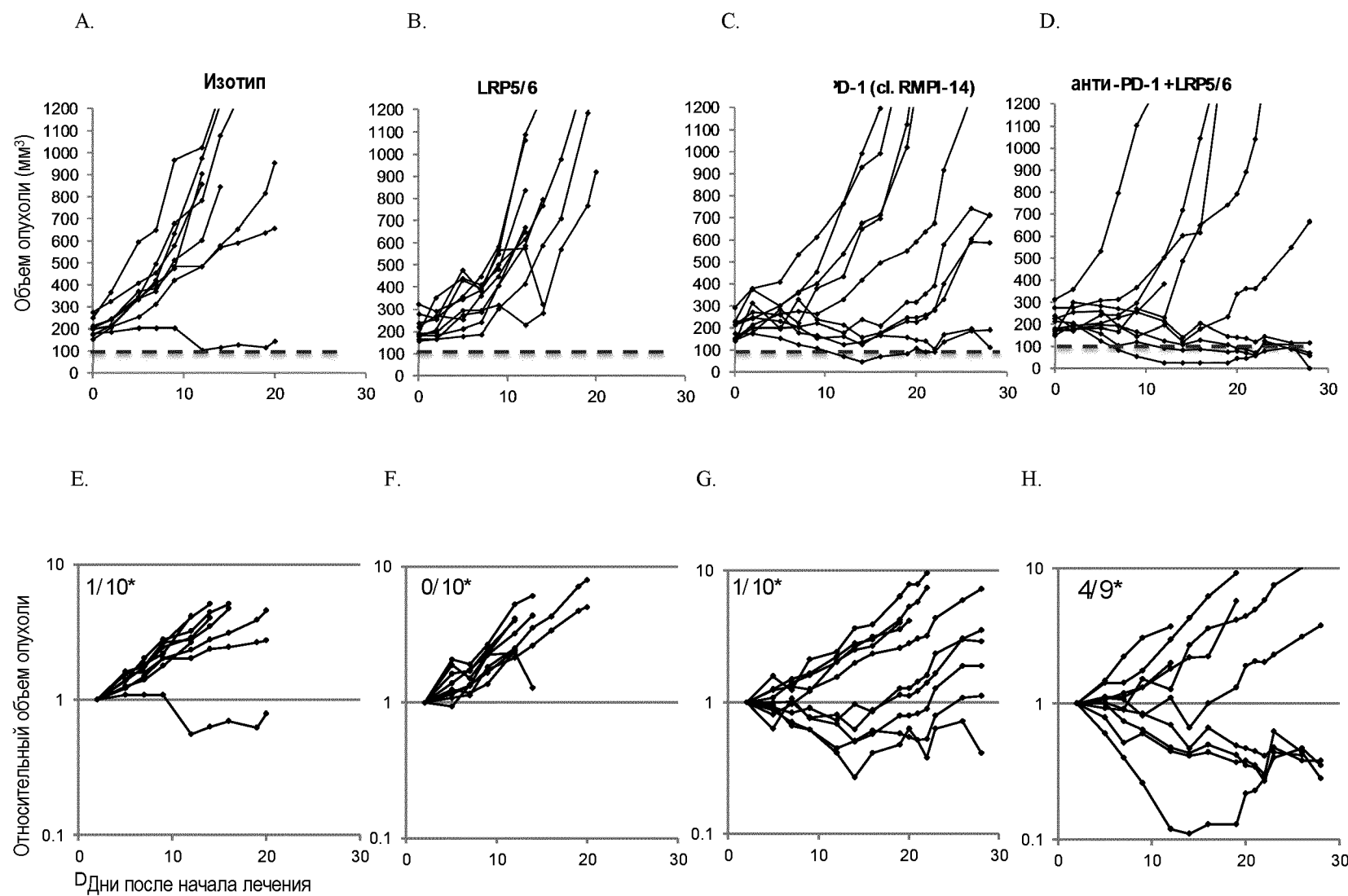
где злокачественное новообразование представляет собой опухоль, резистентную к иммунотерапии.

5

21. Полипептид, способный специфически связываться с LRP5 и LRP6, для применения по одному из пунктов 1, 10 - 17, способ лечения по одному из пунктов 2, 10 - 17, PD-1 антитело для применения по одному из пунктов 3, 10 - 17, применение по одному из пунктов 4, 5, 10 - 17, фармацевтическая композиция для применения по одному из пунктов 7, 10 - 17, или набор для применения по одному из пунктов 9 - 17,

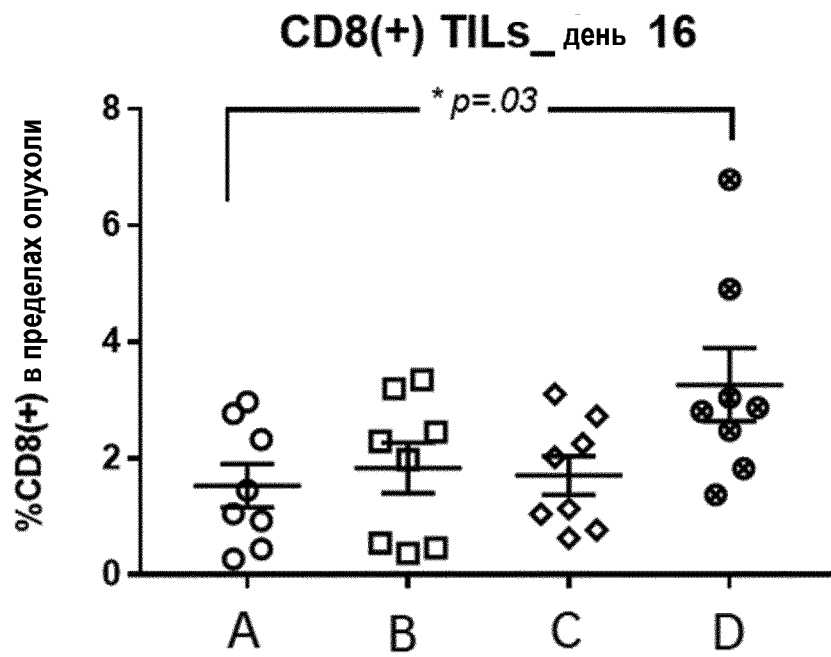
10

где гиперпролиферативное заболевание, подвергаемое лечению, представляет собой солидную опухоль, резистентную к иммунотерапии.



*Ответы после окончания лечения = уменьшение размеров опухоли (Конечный объем опухоли/Начальный объем опухоли <1)

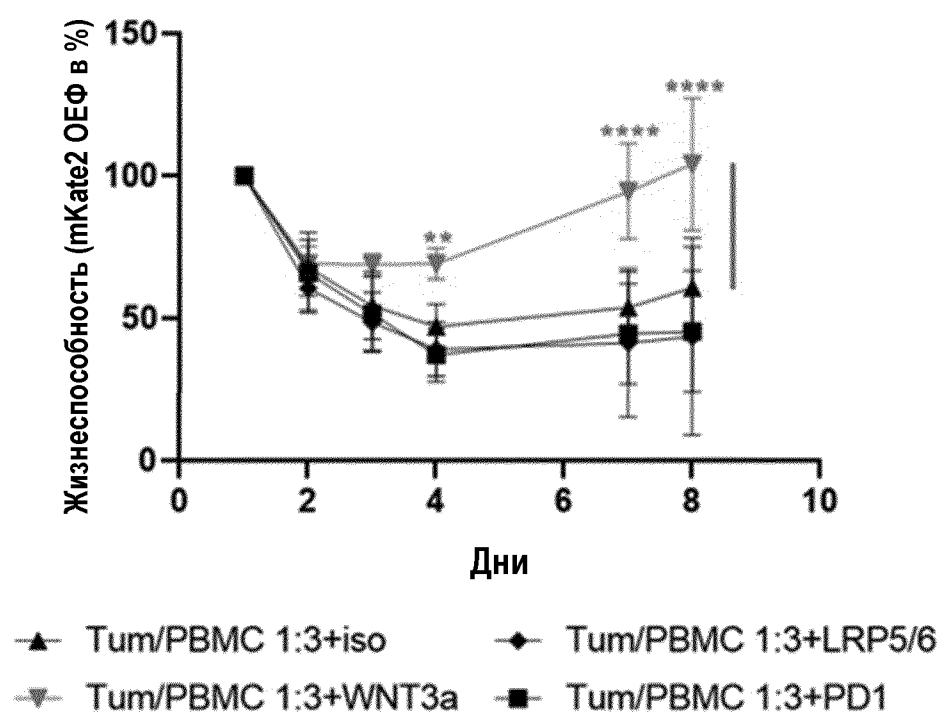
Фиг. 1



A= Изотип; B анти-PD-1 C= LRP5/6; D= LRP5/6 + анти-PD-1

Фиг. 3

А.



Фиг. 3 (продолжение)

В.

