

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202291392** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.09.01

(22) Дата подачи заявки
2020.07.28

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

(54) КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ СОСТАВАМИ АНТИ-PVRIG АНТИТЕЛ И АНТИ-PD-1 АНТИТЕЛ

(31) 62/930,211; 62/968,641; 63/009,364

(32) 2019.11.04; 2020.01.31; 2020.04.13

(33) US

(86) PCT/US2020/043917

(87) WO 2021/091605 2021.05.14

(71) Заявитель:
КОМПЬЮДЖЕН ЛТД. (IL);
БРИСТОЛЬ-МЕЙЕРЗ СКВИББ
КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:
Адевойе Адебойе Генри, Хантер Джон,
Коэн Даяг Анат, Бассиано Пол А.,
Ламон Брайан Д. (IL)

(74) Представитель:
Фелицына С.Б. (RU)

(57) Изобретение относится к комбинированному лечению анти-PVRIG антителами и анти-PD-1 антителами, в частности ниволумабом, с применением их стабильных жидких фармацевтических лекарственных средств.

трансмембранный белок PVRIG [Homo sapiens]

Номер последовательности в NCBI: NP_076975.

1 mrteagvpal qppepegleg mghrtivlow vlltclvtag tpevwvqvrm eatelssfti

61 rcfifegesi slvtvswgqp ngaggttlav lhpergirow aparqarwet qssislleg

121 sgasspcant tfcckfasfp egsweacgsi pssddpqlsa pptpaplra dlagilgvsg

181 vllfgcvvll hllrrhkhrr aprlqpsrts pqaaparawa psqasqaalh vpyatintsc

241 rpatldtahr hggpswwasi pthaahrpqa paawastpjp argsfvsven glvaqagerp

301 phtpgeltlf pdprprame gplevr

(SEQ ID NO: 1)

202291392

A1

A1

202291392

КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ СОСТАВАМИ АНТИ-PVRIG АНТИТЕЛ И АНТИ-PD-1 АНТИТЕЛ

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки на патент США №№ 62/930211, поданной 4 ноября 2019 г., 62/968641, поданной 31 января 2020 г. и 63/009364, поданной 13 апреля 2020 г., каждая из которых включена посредством ссылки в полном объеме.

Уровень техники

Наивные Т-лимфоциты должны получить два независимых сигнала от антигенпрезентирующих клеток (АПК), чтобы стать успешно активированными. Первый, сигнал 1, является антиген-специфическим и возникает, когда рецепторы антигена Т-лимфоцита взаимодействуют с соответствующим комплексом антиген-ГКГС на АПК. Судьба иммунного ответа определяется вторым, независимым от антигена сигналом (сигнал 2), который доставляется посредством костимулирующей молекулы Т-лимфоцита, которая взаимодействует с ее АПК-экспрессируемым лигандом. Этот второй сигнал может быть либо стимулирующим (положительная костимуляция), либо ингибирующим (отрицательная костимуляция или коингибирование). В отсутствие костимулирующего сигнала, или при наличии коингибиторного сигнала, активация Т-лимфоцита нарушается или прекращается, что может привести к состоянию антиген-специфической невосприимчивости (известной как анергия Т-лимфоцита) или может привести к апоптотической смерти Т-лимфоцита.

Пары костимулирующих молекул обычно состоят из лигандов, экспрессируемых на АПК, и их родственных рецепторов, экспрессируемых на Т-лимфоцитах. Прототипами пар лиганд/рецептор костимулирующих молекул являются B7/CD28 и CD40/CD40L. Семейство B7 состоит из структурно родственных белковых лигандов клеточной поверхности, которые могут обеспечивать стимулирующее или ингибирующее воздействие на иммунный ответ. Члены семейства B7 структурно родственны, с внеклеточным доменом, содержащим по меньшей мере один переменный или константный домен иммуноглобулина.

Как положительные, так и отрицательные костимулирующие сигналы играют решающую роль в регуляции клеточно-опосредованных иммунных ответов, а молекулы, которые опосредуют эти сигналы, оказались эффективными мишенями для иммуномодуляции. На основе этих знаний было разработано несколько терапевтических подходов, которые охватывают нацеливание на костимулирующие молекулы, и было

показано, что они полезны в профилактике и лечении рака путем включения или предотвращения выключения иммунных ответов у больных раком, и для профилактики и лечения аутоиммунных заболеваний и воспалительных заболеваний, и также при отторжении при аллогенной трансплантации, в каждом случае путем выключения неконтролируемых иммунных ответов или индукции «сигнала выключения» посредством отрицательной костимуляции (или коингибирования) у субъектов с этими патологическими состояниями.

Манипуляция сигналами, доставляемыми лигандами B7, продемонстрировала потенциал в лечении аутоиммунных, воспалительных заболеваний и отторжения трансплантата. Терапевтические стратегии включают в себя блокирование костимуляции, используя моноклональные антитела к лиганду или рецептору костимулирующей пары, или используя растворимые гибридные белки, состоящие из костимулирующего рецептора, который может связывать и блокировать соответствующий лиганд. Другой подход заключается в индукции коингибирования, используя растворимый гибридный белок ингибиторного лиганда. Эти подходы основаны, по меньшей мере частично, на возможном устранении ауто- или аллореактивных Т-лимфоцитов (которые отвечают за патогенные процессы при аутоиммунных заболеваниях или трансплантации, соответственно), предположительно потому, что при отсутствии костимуляции (которая индуцирует гены выживания клеток) Т-лимфоциты становятся очень чувствительными к индукции апоптоза. Таким образом, новые агенты, которые способны модулировать костимулирующие сигналы без ущерба для способности иммунной системы защищаться от патогенов, очень полезны в лечении и профилактике таких патологических состояний.

Костимулирующие пути играют важную роль в развитии опухоли. Интересно, что опухоли избегают иммунного разрушения, препятствуя активации Т-клеток посредством ингибирования костимулирующих факторов в семействах B7-CD28 и TNF, а также привлекая регуляторные Т-клетки, которые ингибируют противоопухолевый Т-клеточный ответ (см. Wang (2006), "Immune Suppression by Tumor Specific CD4⁺ Regulatory T cells in Cancer", *Semin. Cancer. Biol.* 16:73-79; Greenwald, et al. (2005), "The B7 Family Revisited", *Ann. Rev. Immunol.* 23:515-48; Watts (2005), "TNF/TNFR Family Members in Co-stimulation of T Cell Responses", *Ann. Rev. Immunol.* 23:23-68; Sadum, et al., (2007) "Immune Signatures of Murine and Human Cancers Reveal Unique Mechanisms of Tumor Escape and New Targets for Cancer Immunotherapy", *Clin. Canc. Res.* 13(13): 4016-4025). Такие костимулирующие молекулы, экспрессируемые опухолью, стали привлекательными биомаркерами рака и могут служить в качестве антигенов, ассоциированных с опухолью (ААО). Кроме того, костимулирующие пути были идентифицированы как иммунологические контрольные

точки, которые ослабляют иммунные ответы, зависящие от Т-лимфоцитов, как на уровне инициации, так и на уровне эффекторной функции в опухолевых метастазах. По мере того, как сконструированные противораковые вакцины продолжают совершенствоваться, становится ясно, что такие иммунологические контрольные точки являются основным препятствием для способности вакцин вызывать терапевтические противоопухолевые ответы. В этом отношении костимулирующие молекулы могут служить адъювантами для активной (вакцинация) и пассивной (антитело-опосредованной) иммунотерапии рака, предлагая стратегии для подавления иммунной толерантности и стимуляции иммунной системы.

За последнее десятилетие были разработаны агонисты и/или антагонисты различных костимулирующих белков для лечения аутоиммунных заболеваний, отторжения трансплантата, аллергии и рака. Например, CTLA4-Ig (абатацепт, Oregenia®) одобрен для лечения РА (ревматоидный артрит), мутантный CTLA4-Ig (белатацепт, Nulojix®) для предотвращения острого отторжения трансплантата почки, и анти-CTLA4 антитело (ипилидумаб, Yervoy®) недавно одобрено для лечения меланомы. Были одобрены и другие регуляторы костимуляции, например, анти-PD-1 антитела от Merck (Keytruda®) и BMS (Opdivo®) были одобрены для лечения рака, а также проходят испытания для вирусных инфекций.

Одна интересная цель представляет собой PVRIG. PVRIG представляет собой белок с трансмембранным доменом длиной 326 аминокислот, с сигнальным пептидом (охватывающим аминокислоты 1-40), внеклеточным доменом (охватывающим аминокислоты 41-171), трансмембранным доменом (охватывающим аминокислоты 172-190) и цитоплазматическим доменом (охватывающим аминокислоты 191-326). Полноразмерный белок PVRIG человека показан на фиг. 1. Есть два метионина, которые могут быть стартовыми кодонами, но зрелые белки идентичны.

Белки PVRIG содержат домен иммуноглобулина (Ig) во внеклеточном домене, который представляет собой PVR-подобный домен складки Ig. PVR-подобный домен складки Ig может отвечать за связывание функционального аналога по аналогии с другими членами семейства B7. PVR-подобный домен складки Ig внеклеточного домена включает одну дисульфидную связь, образованную между остатками цистеина внутри домена, что типично для этой складки и может быть важным для структурно-функциональной функции. Эти цистеины расположены в остатках 22 и 93 (или 94). В одном варианте осуществления данного изобретения, предлагается растворимый фрагмент PVRIG, который можно применять для тестирования PVRIG антител. В определение белков PVRIG включены фрагменты PVRIG ECD, включая известные

фрагменты ECD, такие как описанные в патенте США № 9714289.

PVRIG также был идентифицирован как ингибирующий рецептор, который распознает CD112, но не CD155, и он может быть вовлечен в негативную регуляцию противоопухолевых функций, опосредованных DNAM-1. PVRL2 был идентифицирован как лиганд для PVRIG, помещая PVRIG в ось иммунорецептора DNAM/TIGIT (см. Liang et al., Journal of Clinical Oncology 2017 35:15_suppl, 3074-3074).

Анти-PVRIG антитела (включая антигенсвязывающие фрагменты), которые как связываются с PVRIG так и предотвращают активацию PVRL2 (например, чаще всего путем блокирования взаимодействия PVRIG и PVLR2), используются для усиления активации Т-лимфоцитов и/или НК-клеток, и могут применяться для лечения таких заболеваний, как рак и инфекция патогенными микроорганизмами. Таким образом, необходимы составы для введения таких антител.

Соответственно, целью изобретения является предоставление стабильных жидких фармацевтических составов, содержащих анти-PVRIG антитела, или их применение для лечения заболеваний (например, анти-PVRIG антител, включая те, CDR которых идентичны CDR, показанным на фиг. 3).

Краткое описание изобретения

Соответственно, задачей настоящего изобретения является предоставление способов лечения, включающих комбинацию анти-PD-1-антитела и анти-PVRIG антитела, где анти-PVRIG антитело находится в стабильных жидких фармацевтических составах анти-PVRIG антител, как описано в настоящем документе.

В настоящем изобретении предложен способ лечения рака, включающий введение ниволумаба и анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в виде стабильного жидкого фармацевтического состава и при этом стабильный жидкий фармацевтический состав анти-PVRIG антитела содержит:

- (a) анти-PVRIG антитело, при этом указанное анти-PVRIG антитело содержит:
 - i) переменный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и
 - ii) переменный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);
 - (b) от 10 mM до 100 mM гистидина;
 - (c) от 30 mM до 100 mM NaCl;
 - (d) от 20 mM до 150 mM L-аргинина; и
 - (e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанное анти-PVRIG антитело содержит последовательность CH1-шарнир-CH2-CH3 IgG4 (SEQ ID NO:17 или SEQ ID NO:50), при этом указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанное анти-PVRIG антитело содержит участок CH1-шарнир-CH2-CH3 из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, при этом указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный вариабельный домен тяжелой цепи происходит из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), а указанный вариабельный домен легкой цепи происходит из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO:9).

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанное анти-PVRIG антитело содержит CL-участок легкой цепи каппа-2 человека.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный фармацевтический состав содержит от 10 mM до 80 mM гистидина, от 15 mM до 70 mM гистидина, от 20 mM до 60 mM гистидина, от 20 mM до 50 mM гистидина или от 20 mM до 30 mM гистидина.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный фармацевтический состав содержит около 25 mM гистидина.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный фармацевтический состав содержит от 30 mM до 100 mM NaCl, от 30 mM до 90 mM NaCl, от 40 mM до 80 mM NaCl, от 30 mM до 70 mM гистидина или от 45 mM до 70 mM NaCl.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный фармацевтический состав содержит около 60 mM NaCl.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный фармацевтический состав содержит от 20 mM до 140 mM L-аргинина, от 30 mM до 140 mM L-аргинина, от 40 mM до 130 mM L-аргинина, от 50 mM до 120 mM L-аргинин, от 60 mM до 110 mM L-аргинин, от 70 mM до 110 mM L-аргинин, от 80 mM до 110 mM L-аргинин или от 90 mM до 110 mM L-аргинин.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный фармацевтический состав содержит около 100 mM L-аргинина.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный фармацевтический состав содержит от 0,006% до 0,1% масс./об. полисорбата 80, от 0,007% до 0,09% масс./об. полисорбата 80, от 0,008% до 0,08% масс./об. полисорбата 80, от 0,009% до 0,09% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,08% масс./об. полисорбата 80,

от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80 или от 0,01% до 0,06% масс./об. полисорбата 80 или от 0,009% до 0,05% масс./об. полисорбата 80.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный фармацевтический состав содержит около 0,01 мМ полисорбата 80.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный pH составляет от 6 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный pH составляет от 6,3 до 6,8.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный pH составляет 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанное анти-PVRIG антитело находится в концентрации от 10 мг/мл до 40 мг/мл, от 15 мг/мл до 40 мг/мл, от 15 мг/мл до 30 мг/мл, от 10 мг/мл до 25 мг/мл или от 15 мг/мл до 25 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный состав стабилен при температуре от 2°C до 8°C в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель или 10 недель.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный состав стабилен при температуре от около 20°C до 25°C в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель или 6 недель.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный состав стабилен при температуре от 35°C до 40°C в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель или 5 недель.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанное анти-PVRIG антитело находится в концентрации около 20 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный состав анти-PVRIG антител включает:

а) тяжелую цепь, содержащую:

i) VH-CH1-шарнир-CH2-CH3, при этом VH происходит изCHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и при этом участок CH1-шарнир-CH2-CH3 происходит из IgG4; и

b) легкая цепь, содержащая:

i) VL-CL, при этом VL происходит изCHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9), и при этом CL-участок происходит из легкой цепи каппа-2 человека.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный участок шарнира необязательно содержит мутации.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный участок шарнира необязательно содержит мутации.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный состав анти-PVRIG антител включает:

- i) тяжелая цепь, содержащая тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и
- ii) легкая цепь, содержащая легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13).

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный состав анти-PVRIG антител включает:

- (a) анти-PVRIG антитело, при этом указанное анти-PVRIG антитело содержит:
 - i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и
 - ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);
 - (b) около 25 мМ гистидина;
 - (c) около 60 мМ NaCl;
 - (d) около 100 мМ L-аргинина; и
 - (e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный состав анти-PVRIG антител включает:

- (a) анти-PVRIG антитело, при этом указанное анти-PVRIG антитело содержит:
 - i) тяжелая цепь, содержащая тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и
 - ii) легкая цепь, содержащая легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);
 - (b) около 25 мМ гистидина;
 - (c) около 60 мМ NaCl;
 - (d) около 100 мМ L-аргинина; и
 - (e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный состав вводят в дозе от около 0,01 мг/кг до около 20 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный состав

вводят в дозе от около 0,01 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный состав вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг анти-PVRIG антитела.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный ниволумаб вводят в дозе около 360 мг ниволумана или 480 мг ниволумаба.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный состав вводят в дозе 20 мг/кг внутривенно каждые 4 недели.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения, указанный состав вводят в дозе 20 мг/кг в/в каждые 4 недели на срок до 24 месяцев до прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности, начала новой противоопухолевой терапии, отзыва формы информированного согласия субъекта или смерти. В некоторых вариантах осуществления введение составляет до 6 месяцев, 12 месяцев, 18 месяцев или 24 месяцев до прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности, начала новой противоопухолевой терапии, отзыва формы информированного согласия субъекта или смерти.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения указанный рак выбран из группы, состоящей из рака предстательной железы, рака печени (HCC), колоректального рака (CRC - colorectal cancer), колоректального рака MSS (MSS-CRC; включая рефрактерный колоректальный MSS), CRC (MSS неизвестный), рака яичников (включая рак яичников), рака эндометрия (включая рак эндометрия), рака молочной железы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака щитовидной железы, рака яичек, рака уротелия, рака легких, меланомы, немеланомного рака кожи (плоскоклеточный и базально-клеточный рак), глиомы, почечно-клеточный рака (RCC - renal cell cancer), почечно-клеточный рака (RCC), лимфомы (неходжкинская лимфома (NHL - non-Hodgkins' lymphoma) и лимфомы Ходжкина (HD - Hodgkin's lymphoma)), острого миелоидного лейкоза (AML - Acute myeloid leukemia), Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза (T-ALL), диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, опухоли зародышевых клеток яичка, мезотелиомы, рака пищевода, тройного негативного рака молочной железы, рака из клеток Меркеля, MSI-высокого рака, мутантных опухолей KRAS, Т-клеточного лейкоза/лимфомы взрослых, мезотелиомы плевры, анального SCC, нейроэндокринного рака легкого (включая нейроэндокринную карциному легкого), NSCLC, NSCL (крупноклеточный), крупноклеточного NSCLC, плоскоклеточного NSCLC, SCC шейки матки, злокачественной меланомы, рака поджелудочной железы, аденокарциномы поджелудочной железы, NSCLC, адено-

кистозного рака (включая адено-кистозную карциному), первичного рака брюшины, стабильного микросателлитного первичного рака брюшины, резистентного к платине микросателлитного стабильного первичного рака брюшины и/или миелодиспластических синдромов (MDS - Myelodysplastic syndrome).

Настоящее изобретение обеспечивает применение ниволумаба и анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, при этом указанное анти-PVRIG антитело вводят в виде стабильного жидкого фармацевтического состава и при этом указанный стабильный жидкий фармацевтический состав анти-PVRIG антитела содержит:

(а) анти-PVRIG антитело, при этом указанное анти-PVRIG антитело содержит:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 mM до 100 mM гистидина;

(c) от 30 mM до 100 mM NaCl;

(d) от 20 mM до 150 mM L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пункту [0047], указанное анти-PVRIG антитело содержит последовательность CH1-шарнир-CH2-CH3 IgG4 (SEQ ID NO: 17 или SEQ ID NO: 50), при этом указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0048], указанное анти-PVRIG антитело содержит участок CH1-шарнир-CH2-CH3 из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, при этом указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0049], указанный вариабельный домен тяжелой цепи происходит из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), а указанный вариабельный домен легкой цепи происходит из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9).

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0050], указанное анти-PVRIG антитело содержит CL-область легкой цепи каппа-2 человека.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0051], указанный фармацевтический состав содержит от 10 mM до 80 mM

гистидина, от 15 мМ до 70 мМ гистидина, от 20 мМ до 60 мМ гистидина, от 20 мМ до 50 мМ гистидина или от 20 мМ до 30 мМ гистидина.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0052], указанный фармацевтический состав содержит около 25 мМ гистидина.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0053], указанный фармацевтический состав содержит от 30 мМ до 100 мМ NaCl, от 30 мМ до 90 мМ NaCl, от 40 мМ до 80 мМ NaCl, от 30 мМ до 70 мМ гистидина или от 45 мМ до 70 мМ NaCl.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0054], указанный фармацевтический состав содержит около 60 мМ NaCl.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0055], указанный фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 140 мМ L-аргинина, от 30 мМ до 140 мМ L-аргинина, от 40 мМ до 130 мМ L-аргинина, от 50 мМ до 120 мМ L-аргинин, от 60 мМ до 110 мМ L-аргинин, от 70 мМ до 110 мМ L-аргинин, от 80 мМ до 110 мМ L-аргинин или от 90 мМ до 110 мМ L-аргинин.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0056], указанный фармацевтический состав содержит около 100 мМ L-аргинина.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0057], указанный фармацевтический состав содержит от 0,006% до 0,1% масс./об. полисорбата 80, от 0,007% до 0,09% масс./об. полисорбата 80, от 0,008% до 0,08% масс./об. полисорбата 80, от 0,009% до 0,09% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,08% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80 или от 0,01% до 0,06% масс./об. полисорбата 80 или от 0,009% до 0,05% масс./об. полисорбата 80.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0058], указанный фармацевтический состав содержит около 0,01% полисорбата 80.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0059] указанный pH составляет от 6 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0060] указанный pH составляет от 6,3 до 6,8.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0061] указанный pH составляет 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0062], указанное анти-PVRIG антитело находится в концентрации от 10 мг/мл до 40 мг/мл, от 15 мг/мл до 40 мг/мл, от 15 мг/мл до 30 мг/мл, от 10 мг/мл до 25 мг/мл или от 15 мг/мл до 25 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0063], указанный состав стабилен при температуре от 2°C до 8°C в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель или 10 недель.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0064], указанный состав стабилен при температуре от около 20°C до 25°C в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель или 6 недель.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0065], указанный состав стабилен при температуре от около 35°C до 40°C в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель или 5 недель.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0066] указанное анти-PVRIG антитело находится в концентрации примерно 20 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения по пунктам [0047]-[0067] указанный состав анти-PVRIG антител включает:

а) тяжелую цепь, содержащую:

i) VH-CH1-шарнир-CH2-CH3, при этом VH происходит изCHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и при этом участок CH1-шарнир-CH2-CH3 происходит из IgG4; и

b) легкая цепь, содержащая:

i) VL-CL, при этом VL происходит изCHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9), и при этом CL-участок происходит из легкой цепи каппа-2 человека.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0068], указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0069], указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения по пунктам [0047]-[0070] указанный состав анти-PVRIG антител включает:

i) тяжелая цепь, содержащая тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкая цепь, содержащая легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13).

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения по пунктам [0047]-[0071] указанный состав анти-PVRIG антител включает:

- (a) анти-PVRIG антитело, при этом указанное анти-PVRIG антитело содержит:
 - i) переменный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и
 - ii) переменный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);
 - (b) около 25 мМ гистидина;
 - (c) около 60 мМ NaCl;
 - (d) около 100 мМ L-аргинина; и
 - (e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения по пунктам [0047]-[0072] указанный состав анти-PVRIG антител включает:

- (a) анти-PVRIG антитело, при этом указанное анти-PVRIG антитело содержит:
 - i) тяжелая цепь, содержащая тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и
 - ii) легкая цепь, содержащая легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);
 - (b) около 25 мМ гистидина;
 - (c) около 60 мМ NaCl;
 - (d) около 100 мМ L-аргинина; и
 - (e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения по пунктам [0047]-[0073], указанный состав вводят в дозе от около 0,01 мг/кг до около 20 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный состав вводят в дозе от около 0,01 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения по пунктам [0047]-[0074], указанный состав вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг анти-PVRIG антитела.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения по пунктам [0047]-[0075], указанный ниволумаб вводят в дозе около 360 мг ниволумана или 480 мг ниволумаба.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0076] указанный состав вводят в дозе 20 мг/кг каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0076] указанный состав вводят в дозе 20 мг/кг в/в каждые 4 недели.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения в соответствии с пунктами [0047]-[0077], указанный состав вводят в/в в дозе 20 мг/кг каждые 4 недели на срок до 24 месяцев до прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности, начала новой противоопухолевой терапии, отзыва формы информированного согласия субъекта или смерти. В некоторых вариантах осуществления введение составляет до 6 месяцев, 12 месяцев, 18 месяцев или 24 месяцев до прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности, начала новой противоопухолевой терапии, отзыва формы информированного согласия субъекта и/или смерти.

В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения согласно пунктам [0047]-[0078], указанный рак выбран из группы, состоящей из рака предстательной железы, рака печени (HCC), колоректального рака (CRC - colorectal cancer), колоректального рака MSS (MSS-CRC; включая рефрактерный колоректальный MSS), CRC (MSS неизвестный), рака яичников (включая рак яичников), рака эндометрия (включая рак эндометрия), рака молочной железы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака щитовидной железы, рака яичек, рака уротелия, рака легких, меланомы, немеланомного рака кожи (плоскоклеточный и базально-клеточный рак), глиомы, почечно-клеточный рака (RCC - renal cell cancer), почечно-клеточный рака (RCC), лимфомы (неходжкинская лимфома (NHL - non-Hodgkins' lymphoma) и лимфомы Ходжкина (HD - Hodgkin's lymphoma)), острого миелоидного лейкоза (AML - Acute myeloid leukemia), Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза (T-ALL), диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, опухоли зародышевых клеток яичка, мезотелиомы, рака пищевода, тройного негативного рака молочной железы, рака из клеток Меркеля, MSI-высокого рака, мутантных опухолей KRAS, Т-клеточного лейкоза/лимфомы взрослых, мезотелиомы плевры, анального SCC, нейроэндокринного рака легкого (включая нейроэндокринную карциному легкого), NSCLC, NSCL (крупноклеточный), крупноклеточного NSCLC, плоскоклеточного NSCLC, SCC шейки матки, злокачественной меланомы, рака поджелудочной железы, аденокарциномы поджелудочной железы, NSCLC, адено-кистозного рака (включая адено-кистозную карциному), первичного рака брюшины, стабильного микросателлитного первичного рака брюшины, резистентного к платине микросателлитного стабильного первичного рака брюшины и/или миелодиспластических синдромов (MDS - Myelodysplastic syndrome).

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1 иллюстрирует полноразмерную последовательность PVRIG человека.

Фиг. 2 иллюстрирует последовательность белка 2, относящегося к рецепторам полиовируса (PVLR2, также известного как нектин-2, CD112 или медиатор входа герпесвируса В (HVEB)), партнера по связыванию PVRIG. PVLR2 представляет собой гликопротеин плазматической мембраны человека.

Фиг. 3 иллюстрирует переменные участки тяжелой и легкой цепей, а также последовательности *vhCDR1*, *vhCDR2*, *vhCDR3*, *vlCDR1*, *vlCDR2* и *vlCDR3* СНА.7.518.1.H4(S241P) по изобретению.

Фиг. 4 иллюстрирует последовательности IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 человека.

Фиг. 5A-5D иллюстрируют последовательности других PVRIG антител, которые могут быть составлены в соответствии со стабильными жидкими составами анти-PVRIG антитела по данному изобретению.

На фиг. 6 представлены данные, показывающие заполняемость рецепторов при различных дозировках СНА.7.518.1.H4(S241P) (тяжелая цепь: SEQ ID NO: 8; легкая цепь: SEQ ID NO: 13).

На фиг. 7 представлены данные, показывающие заполняемость рецепторов при различных дозировках СНА.7.518.1.H4(S241P) (тяжелая цепь: SEQ ID NO: 8; легкая цепь: SEQ ID NO: 13).

На фиг. 8 представлены данные, показывающие, что PVRIG представляет собой новую контрольную точку в TIGIT/DNAM-1 AXIS.

На фиг. 9 представлены данные, показывающие, что ингибирование PVRIG снижает рост опухоли в моделях рака у мышей.

На фиг. 10 представлена схема дизайна исследования.

На фиг. 11 представлена информация об исходных характеристиках пациента.

На фиг. 12 представлена информация о назначении лечения для пациента.

На фиг. 13 представлена информация о побочных явлениях, возникающих при лечении.

На фиг. 14 представлена информация о серьезных побочных явлениях, возникающих при лечении.

На фиг. 15 представлен График «дорожек бассейна» данных пациента.

На фиг. 16 представлена каскадная диаграмма данных пациента.

На фиг. 17 представлена информация о пациентах со стабильным заболеванием и зависимости доза-ответ.

На фиг. 18 представлена лучшая информация об ответе на лечение в момент

времени для пациентов с резистентным к лечению заболеванием.

На фиг. 19 представлен график данных дозировки лечения.

На фиг. 20 представлены данные о взаимодействии PVRIG с анти-PVRIG с использованием анализа занятости рецептора.

На фиг. 21 представлены данные о базовых характеристиках пациента.

На фиг. 22 представлено описание о расположении пациентов.

На фиг. 23 показана схема повышения дозы.

На фиг. 24 представлено описание побочных явлений – набор анализов безопасности.

На фиг. 25 представлено описание серьезных побочных явлений, приведших к прекращению исследуемого лечения (группа А).

На фиг. 26 представлена частота побочных явлений, возникших после лечения (TEAE) у ≥ 3 пациентов — монотерапия.

На фиг. 27 представлена частота TEAE у ≥ 3 пациентов — комбинированная терапия.

На фиг. 28 представлена частота серьезных TEAE у всех пациентов - монотерапия ($n = 18$).

На фиг. 29 представлена частота серьезных TEAE у всех пациентов — комбинация ($n = 13$).

На фиг. 30 представлен фармакокинетический профиль CNA.7.518.1.H4(S241P) после внутривенной инфузии в цикле 1, день 1 — группы А и В.

На фиг. 31 представлено описание ответа, оцененного исследователем (на популяцию, поддающуюся оценке recist v1.1 dlt) для групп А и В.

На фиг. 32А-32С представлены графики «дорожек бассейна» для данных из групп А и В. Сводный график представлен на фиг. 32С.

На фиг. 33 представлена каскадная диаграмма данных из групп А и В.

На фиг. 34 представлены данные, касающиеся CNA.7.518.1.H4(S241P) + ниволумаб — подтвержденный PR у пациента с MSS (микросателлитный стабильный статус) колоректального рака (продолжающееся лечение в течение 44 недель).

На фиг. 35 представлены данные относительно монотерапии CNA.7.518.1.H4(S241P) – подтвержденный PR у пациента с MSS (микросателлитный стабильный статус) с резистентным к платине первичным раком брюшины, продолжающееся исследование, лечение 25 недель.

Подробное описание изобретения

Введение

Рак можно рассматривать как неспособность организма пациента распознавать и устранять раковые клетки. Во многих случаях эти трансформированные (например, раковые) клетки противодействуют иммунному надзору. Существуют естественные механизмы контроля, которые ограничивают активацию Т-лимфоцитов в организме для предотвращения неограниченной активности Т-лимфоцитов, которые могут использоваться раковыми клетками для уклонения или подавления иммунного ответа. Цель иммунотерапии - восстановить способность иммунных эффекторных клеток, особенно Т-лимфоцитов, распознавать и устранять рак. Область иммуноонкологии, которую иногда называют «иммунотерапией», быстро развивается, и в последнее время одобрено несколько антител, ингибирующих Т-лимфоциты, таких как Ервой, Кейтруда и Опдиво. Эти антитела обычно называют «ингибиторами контрольных точек», поскольку они блокируют обычно негативные регуляторы Т-клеточного иммунитета. Как правило, считается, что различные иммуномодулирующие сигналы, как костимулирующие, так и коингибирующие, могут применяться для получения оптимального антигенспецифического иммунного ответа. Как правило, эти антитела связываются с белками-ингибиторами контрольных точек, такими как CTLA-4 и PD-1, которые в нормальных условиях предотвращают или подавляют активацию цитотоксических Т-клеток (CTL). За счет ингибирования белка контрольной точки, например, в результате применения антител, которые связывают эти белки, может быть достигнут повышенный противоопухолевый ответ Т-лимфоцитов. То есть эти раковые белки контрольной точки подавляют иммунный ответ; когда белки блокируются, например, с помощью антител к белку контрольной точки, иммунная система активируется, что приводит к иммуностимуляции и возникает возможность лечить такие патологии, как рак и инфекционные заболевания.

Данное изобретение относится к составам, содержащим антитела к белку, содержащему домен иммуноглобулина, связанный с рецептором полиовируса человека, или «PVRIG», иногда также называемому в данном документе «белком PV». «PVRIG» экспрессируется на клеточной поверхности НК- и Т-клеток и имеет несколько сходств с другими известными иммунными контрольными точками.

Соответственно, данное изобретение относится к составам, содержащим антитела, включая антигенсвязывающие домены, которые связываются с PVRIG человека и его пептидами, и способам активации Т-клеток и/или НК-клеток для лечения таких заболеваний, как рак и инфекционные заболевания, и других состояний, при которых

повышено иммунная активность приводит к излечению. В частности, изобретение относится к составам, содержащим антитела, содержащие тяжелые и легкие цепи, а также последовательности *vhCDR1*, *vhCDR2*, *vhCDR3*, *vlCDR1*, *vlCDR2* и *vlCDR3* из СНА.7.518.1.H4(S241P). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анти-PVRIG антитела включают антитела с CDR, идентичными показанным на фиг. 3. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анти-PVRIG антитела содержат CDR, идентичные CDR, показанным на фиг. 5A-5D, а также анти-PVRIG антитела, содержащие тяжелые и легкие цепи, как показано на фиг. 5A-5D.

Белки PVRIG

Данное изобретение относится к составам, содержащим антитела, которые специфически связываются с белками PVRIG. «Белок» в данном контексте используется взаимозаменяемо с «полипептидом» и также включает пептиды. Данное изобретение относится к антителам, которые специфически связываются с белками PVRIG. PVRIG представляет собой белок с трансмембранным доменом длиной 326 аминокислот, с сигнальным пептидом (охватывающим аминокислоты 1-40), внеклеточным доменом (охватывающим аминокислоты 41-171), трансмембранным доменом (охватывающим аминокислоты 172-190) и цитоплазматическим доменом (охватывающим аминокислоты 191-326). Полноразмерный белок PVRIG человека показан на фиг. 1. Есть два метионина, которые могут быть стартовыми кодонами, но зрелые белки идентичны.

Соответственно, в контексте данного документа, термин «PVRIG», «белок PVRIG» или «полипептид PVRIG» может необязательно включать в себя любой такой белок или его варианты, конъюгаты или фрагменты, включая, но не ограничиваясь лишь известными типами PVRIG или диким типом, как описано в данном документе, а также любые встречающиеся в природе варианты сплайсинга, аминокислотные варианты или изоформы и, в частности, фрагмент ECD PVRIG. Термин «растворимая» форма PVRIG также используется взаимозаменяемо с терминами «растворимый эктодомен (ECD)» или «эктодомен» или «внеклеточный домен (ECD)», а также «фрагменты полипептидов PVRIG», которые могут относиться в целом к одному или более из следующих необязательных полипептидов:

Белки PVRIG содержат домен иммуноглобулина (Ig) во внеклеточном домене, который представляет собой PVR-подобный домен складки Ig. PVR-подобный домен складки Ig может отвечать за связывание функционального аналога по аналогии с другими членами семейства B7. PVR-подобный домен складки Ig внеклеточного домена включает одну дисульфидную связь, образованную между остатками цистеина внутри домена, что типично для этой складки и может быть важным для структурно-

функциональной функции. Эти цистеины расположены в остатках 22 и 93 (или 94). В одном варианте осуществления данного изобретения, предлагается растворимый фрагмент PVRIG, который можно применять для тестирования PVRIG антител. В определение белков PVRIG включены фрагменты PVRIG ECD, включая известные фрагменты ECD, такие как описанные в патенте США № 9714289, которые полностью включены в настоящее описание посредством ссылки для всех целей.

Как отмечено в данном документе и более подробно описано ниже, анти-PVRIG антитела (включая антигенсвязывающие фрагменты), которые как связываются с PVRIG так и предотвращают активацию PVRL2 (например, чаще всего путем блокирования взаимодействия PVRIG и PVLR2), используются для усиления активации Т-лимфоцитов и/или НК-клеток, и могут применяться для лечения таких заболеваний, как рак и инфекция патогенными микроорганизмами.

Антитела

Соответственно, изобретение относится к анти-PVRIG антителам, которые могут быть составлены в соответствии с составами, описанными в данном документе и представленными на фиг. 3 (например, включая анти-PVRIG антитела, в том числе с CDR, идентичными показанным на фиг. 3). PVRIG, также называемый относящимся к полиовирусным рецепторам белком, содержащим иммуноглобулиновый домен, Q6DKI7 или C7orf15, относится к аминокислотным и нуклеотидным последовательностям, указанным под идентификатором доступа RefSeq NP_076975, показанном на фиг. 1. Антитела по данному изобретению специфичны в отношении внеклеточного домена PVRIG.

Как обсуждается ниже, термин «антитело» употребляется в широком смысле. Антитела, которые находят применение в данном изобретении, могут принимать ряд форматов, описанных в данном документе, включая традиционные антитела, так же, как и производные, фрагменты и миметики антител, описанные ниже. Как правило, термин «антитело» включает любой полипептид, который содержит по меньшей мере один антигенсвязывающий домен, как более подробно описано ниже. Антитела могут быть поликлональными, моноклональными, ксеногенными, аллогенными, сингенными или их модифицированными формами, как описано в данном документе, причем моноклональные антитела находят особое применение во многих вариантах осуществления данного изобретения. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, антитела по данному изобретению специфически или по существу специфически связываются с молекулами PVRIG. Термины «моноклональные антитела» и «композиция моноклональных антител», применяемые в данном документе, относятся к

популяции молекул антител, которые содержат только один вид антигенсвязывающего сайта, способного к иммунореагированию с конкретным эпитопом антигена, тогда как термин «поликлональные антитела» и «композиция поликлональных антител» относятся к популяции молекул антител, которые содержат множество видов антигенсвязывающих сайтов, способных взаимодействовать с конкретным антигеном. Композиция моноклонального антитела обычно проявляет единственную аффинность связывания с конкретным антигеном, с которым она иммунореагирует.

Как правило, традиционные полноразмерные структурные единицы антитела содержат тетрамер. Как правило, каждый тетрамер состоит из двух идентичных пар полипептидных цепей, а каждая пара имеет одну «легкую» (как правило, имеющую молекулярную массу около 25 кДа) и одну «тяжелую» цепь (как правило, имеющую молекулярную массу около 50-70 кДа). Легкие цепи человека классифицируются как легкие цепи каппа и лямбда. Данное изобретение относится к классу IgG, имеющему несколько подклассов, включая, но не ограничиваясь этим, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Таким образом, под термином «изотип», используемым в контексте данного документа, подразумевается любой из подклассов иммуноглобулинов, определяемый химическими и антигенными характеристиками их константных областей. В то время как иллюстративные антитела, обозначенные в данном документе как «CPA», основаны на тяжелых константных участках IgG1, как показано на фиг. 4, анти-PVRIG антитела по изобретению включают антитела, использующие последовательности IgG2, IgG3 и IgG4 или их комбинации. Например, как известно в данной области техники, разные изотипы IgG обладают разными эффекторными функциями, которые могут быть желательными или нежелательными. Соответственно, CPA-антитела по данному изобретению также могут заменять константные домены IgG1 на константные домены IgG2, IgG3 или IgG4 (показаны на фиг. 4), при этом IgG2 и IgG4 находят особое применение в ряде ситуаций, например, для простоты производства или когда желательна сниженная эффекторная функция, последнее желательно в некоторых ситуациях.

Аминоконцевая часть каждой цепи включает переменный участок от около 100 до 110 или более аминокислот, в первую очередь ответственную за распознавание антигена, обычно называемую в данной области техники и в данном документе «Fv-доменом» или «Fv-областью». В переменном участке три петли собираются для каждого из V-доменов тяжелой цепи и легкой цепи с образованием антигенсвязывающего сайта. Каждая из петель называется участком, определяющим комплементарность (далее называемой «CDR»), в котором изменение аминокислотной последовательности является наиболее значительным. Термин «переменный» относится к тому факту, что

определенные сегменты вариабельного участка сильно различаются по последовательности среди антител. Вариабельность в пределах вариабельного участка распределена неравномерно. Напротив, V-участки состоят из относительно инвариантных участков, называемых каркасными областями (FR) из 15 – 30 аминокислот, разделенных более короткими областями чрезмерной вариабельности, называемыми «гипервариабельными областями».

Каждый VH и VL состоит из трех гипервариабельных участков («определяющих комплементарность участков», «CDR») и четырех FR, расположенных от аминоконца до карбоксиконца в следующем порядке: FR1 – CDR1 – FR2 – CDR2 – FR3 – CDR3 – FR4.

Гипервариабельный участок обычно охватывает аминокислотные остатки около из аминокислотных остатков 24 – 34 (LCDR1; «L» обозначает легкую цепь), 50 – 56 (LCDR2) и 89 – 97 (LCDR3) в вариабельном участке легкой цепи и около из аминокислотных остатков 31 – 35B (HCDR1; «H» обозначает тяжелую цепь), 50 – 65 (HCDR2) и 95 – 102 (HCDR3) в вариабельном участке тяжелой цепи; Kabat et al., SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991), и/или те остатки, которые образуют гипервариабельную петлю (например, остатки 26 – 32 (LCDR1), 50 – 52 (LCDR2) и 91 – 96 (LCDR3) в вариабельном участке легкой цепи и 26 – 32 (HCDR1), 53 – 55 (HCDR2) и 96 – 101 (HCDR3) в вариабельном участке тяжелой цепи; Chothia and Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196: 901 – 917. Специфические CDR согласно данному изобретению описаны ниже и показаны на фиг. 6A-6D.

Карбоксиконцевая часть каждой цепи определяет константный участок, в первую очередь ответственный за эффекторную функцию. Kabat с соавт. собрали многочисленные первичные последовательности вариабельных участков тяжелых цепей и легких цепей. На основании степени консервативности последовательностей, они классифицировали отдельные первичные последовательности на последовательности CDR и последовательности каркаса, а также составили их перечень (см. SEQUENCES OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th edition, NIH publication, No. 91 – 3242, E. A. Kabat et al.; данная публикация включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме).

В подклассе иммуноглобулинов IgG имеется несколько доменов иммуноглобулинов в тяжелой цепи. Под термином «домен иммуноглобулина (Ig)», используемым в контексте данного документа, подразумевается участок иммуноглобулина, имеющий отчетливую третичную структуру. В данном изобретении представляют интерес домены тяжелой цепи, в том числе константные домены тяжелой

цепи (CH) и шарнирные домены. Применительно к антителам IgG, каждый из изотипов IgG имеет три участка CH. Соответственно, «CH» домены применительно к IgG являются следующими: «CH1» относится к положениям 118 – 220 в соответствии с индексом EU, как по Кабату. «CH2» относится к положениям 237 – 340 в соответствии с индексом EU, как по Кабату, а «CH3» относится к положениям 341 – 447 в соответствии с индексом EU, как по Кабату.

Соответственно, изобретение относится к переменным доменам тяжелой цепи, переменным доменам легкой цепи, константным доменам тяжелой цепи, константным доменам легкой цепи и доменам Fc для применения, как описано в данном документе. Под термином «переменный участок», используемый в контексте данного документа, подразумевается участок иммуноглобулина, который содержит один или большее количество доменов Ig, по существу кодируемых любым из генов V_κ, V_λ и/или V_H, которые составляют генетические локусы каппа, лямбда и тяжелой цепи иммуноглобулина, соответственно. Соответственно, переменный домен тяжелой цепи содержит vhFR1-vhCDR1-vhFR2-vhCDR2-vhFR3-vhCDR3-vhFR4, а переменный домен легкой цепи содержит vlFR1-vlCDR1-vlFR2-vlCDR2-vlFR3-vlCDR3-vlFR4. Под термином «константный участок тяжелой цепи», используемым в контексте данного документа, подразумевается часть антитела CH1 – шарнир – CH2 – CH3. В контексте данного документа под термином «Fc» или «Fc-участок» или «Fc-домен» подразумевается полипептид, содержащий константный участок антитела, исключая первый константный участок домена иммуноглобулина и, в некоторых случаях, часть шарнира. Таким образом, Fc относится к двум последним константным участкам иммуноглобулиновых доменов IgA, IgD и IgG, к последним трем константным участкам иммуноглобулиновых доменов IgE и IgM и гибкому шарнирному N-концу этих доменов. В IgA и IgM, Fc может включать J-цепь. В IgG домен Fc содержит иммуноглобулиновые домены C_γ2 и C_γ3 (C_γ2 и C_γ3) и нижний шарнирный участок между C_γ1 (C_γ1) и C_γ2 (C_γ2). Несмотря на то, что границы участка Fc могут варьировать, участок Fc тяжелой цепи IgG человека обычно определяется как включающий остатки C226 или P230 к его карбоксильному концу, при этом нумерация соответствует индексу EU, как по Кабату. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, что более полно описано ниже, модификации аминокислот осуществляются в участке Fc, например, для изменения связывания с одним или более рецепторов Fc_γR или с рецептором FcRn.

Таким образом, под термином «Fc-вариант» или «вариант Fc» в данном документе подразумевается белок, содержащий аминокислотную модификацию в Fc-домене. Варианты Fc согласно данному изобретению заданы в соответствии с аминокислотными

модификациями, которые их составляют. Таким образом, например, N434S или 434S представляет собой вариант по Fc с замещенным серином в положении 434 относительно родительского полипептида Fc, при этом нумерация соответствует индексу ЕС. Аналогично, M428L/N434S определяет вариант по Fc с заменами M428L и N434S относительно исходного полипептида Fc. Идентичность аминокислоты ДТ может быть неопределенной, и в этом случае вышеупомянутый вариант обозначается как 428L/434S. Следует отметить, что порядок, в котором представлены замены, является произвольным, то есть, например, 428L/434S представляет собой тот же самый вариант Fc, что и M428L/N434S, и т.д. Для всех положений, обсуждаемых в данном изобретении, которые связаны с антителами, если не указано иное, нумерация аминокислотных положений соответствует индексу ЕС.

В контексте данного документа под термином «Fab» или «участок Fab» подразумевается полипептид, который содержит домены иммуноглобулина VH, CH1, VL и CL. Fab может относиться к данной участку, представленному отдельно, или к данному участку в контексте полноразмерного антитела, фрагмента антитела или гибридного белка, содержащего Fab. В контексте данного документа под термином «Fv», «фрагмент Fv» или «участок Fv» подразумевается полипептид, который содержит домены VL и VH одного антитела. Как будет понятно специалистам в данной области техники, они обычно состоят из двух цепей.

В данном описании система нумерации по Кабату обычно применяется для обозначения остатка в переменном домене (приблизительно, остатки 1 – 107 переменного участка легкой цепи и остатки 1 – 113 переменного участка тяжелой цепи), а система нумерации ЕС – для участков Fc (например, Kabat et al., выше (1991)). Нумерация ЕС, как в Кабат, обычно используется для константных доменов и/или доменов Fc.

CDR способствуют образованию антигенсвязывающего или, более конкретно, эпитопсвязывающего сайта антител. Под термином «эпитоп», используемым в контексте данного документа, подразумевается детерминанта, которая взаимодействует со специфическим антигенсвязывающим доменом, например, с переменным участком молекулы антитела, известной как паратоп. Эпитопы представляют собой группы молекул, таких как аминокислоты или боковые цепи сахаров, и обычно имеют специфические структурные характеристики, а также специфические характеристики заряда. Один антиген может иметь более одного эпитопа.

Эпитоп может содержать аминокислотные остатки, непосредственно участвующие в связывании (также называемые иммунодоминантным компонентом эпитопа), и другие

аминокислотные остатки, которые не участвуют непосредственно в связывании, такие как аминокислотные остатки, которые эффективно блокируются специфическим антигенсвязывающим пептидом; другими словами, аминокислотный остаток находится в зоне действия специфического антигенсвязывающего пептида.

Эпитопы могут иметь конформационную или линейную природу. Конформационный эпитоп продуцируется пространственно сопоставленными аминокислотами из разных сегментов линейной полипептидной цепи. Линейный эпитоп представляет собой эпитоп, продуцируемый соседними аминокислотными остатками в полипептидной цепи. Конформационные и неконформационные эпитопы могут различаться тем, что в присутствии денатурирующих растворителей теряется связывание с первыми, но не со вторыми эпитопами.

Как правило, эпитоп включает в себя по меньшей мере 3, а более характерно – по меньшей мере 5 или 8 – 10 аминокислот в уникальной пространственной конформации. Антитела, которые распознают один и тот же эпитоп, могут быть верифицированы с помощью простого иммуноанализа, демонстрирующего способность одного антитела блокировать связывание другого антитела с целевым антигеном, например «бининг». Конкретные пары оснований описаны ниже.

В определение «антитела» включена «антигенсвязывающая часть» антитела (также используемая взаимозаменяемо с «антигенсвязывающим фрагментом», «фрагментом антитела» и «производным антитела»). То есть для целей изобретения антитело по данному изобретению имеет минимальное функциональное требование, чтобы оно связывалось с антигеном PVRIG. Как должно быть понятно специалистам в данной области техники, существует большое количество фрагментов и производных антигена, которые сохраняют способность связывать антиген и при этом имеют альтернативные структуры, включая, но не ограничиваясь этим, (i) Fab-фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, CL и CH1, (ii) фрагмент Fd, состоящий из доменов VH и CH1, (iii) фрагменты F(ab')₂, бивалентный фрагмент, состоящий из двух связанных Fab-фрагментов, (vii) одноцепочечные молекулы Fv (scFv), при этом домен VH и домен VL связаны пептидным линкером, который позволяет двум доменам ассоциироваться с образованием сайта связывания антигена (Bird et al., 1988, Science 242:423-426, Huston et al., 1988). , Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883, полностью включено в качестве ссылки), (iv) «диатела» или «триатела», мультивалентные или мультиспецифичные фрагменты, сконструированные путем слияния генов (Tomlinson et. al., 2000, Methods Enzymol. 326:461-479; WO94/13804; Holliger et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:6444-6448, все полностью включены посредством ссылки), (v) «доменные антитела» или «dAb»

(иногда называемые «одиночными вариабельными доменами иммуноглобулина», включая вариабельные домены отдельных антител других видов, таких как грызуны (например, как описано в WO 00/29004), акулы-няньки и Camelid V-НН dAbs, (vi) SMIP (низкомолекулярные иммунофармацевтические препараты), верблюжьих тела, нанотела и IgNAR.

Кроме того, антитело или его антигенсвязывающая часть (антигенсвязывающий фрагмент, фрагмент антитела, часть антитела) могут быть частью более крупных молекул иммуноадгезии (иногда также называемых «слитыми белками»), образованных ковалентной или нековалентной ассоциацией антител или частью антитела с одним или более другими белками или пептидами. Примеры молекул иммуноадгезии включают использование центрального участка стрептавидина для получения тетрамерной молекулы scFv и использование остатка цистеина, маркерного пептида и С-концевой полигистидиновой метки для получения двухвалентных и биотинилированных молекул scFv. Части антител, такие как фрагменты Fab и F(ab')₂, могут быть получены из целых антител с использованием обычных способов, таких как расщепление целых антител папаином или пепсином, соответственно. Более того, антитела, части антител и молекулы иммуноадгезии могут быть получены с использованием стандартных методов рекомбинантной ДНК, как описано в данном документе.

Как правило, анти-PVRIG антитела по данному изобретению являются рекомбинантными. Термин «рекомбинантный», используемый в данном документе, в широком смысле относится к продукту, например, к клетке или нуклеиновой кислоте, белку или вектору, указывает на то, что клетка, нуклеиновая кислота, белок или вектор были модифицированы путем введения гетерологичной нуклеиновой кислоты или белка, или изменение нативной нуклеиновой кислоты или белка, или что клетка получена из модифицированной таким образом клетки. Так, например, рекомбинантные клетки экспрессируют гены, которых нет в нативной (нерекомбинантной) форме клетки, или экспрессируют нативные гены, которые иначе экспрессируются аномально, недостаточно экспрессируются или вообще не экспрессируются.

Термин «рекомбинантное антитело» в контексте настоящего документа включает все антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные рекомбинантными методами, такие как (a) антитела, выделенные от животного (например, мыши), которое является трансгенным или трансхромосомным в отношении генов человеческих иммуноглобулинов, или полученной из него гибридомы (дополнительно описанной ниже), (b) антитела, выделенные из клетки-хозяина, трансформированной для экспрессии человеческого антитела, например, из трансфектомы, (c) антитела,

выделенные из рекомбинантной комбинаторной библиотеки человеческих антител, и (d) антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любыми другими методами, которые включают сплайсинг последовательностей гена человеческого иммуноглобулина с получением других последовательностей ДНК. Такие рекомбинантные человеческие антитела имеют переменные участки, в которых каркасные участки и участки CDR происходят из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека. Однако в некоторых вариантах осуществления данного изобретения, такие рекомбинантные человеческие антитела могут быть подвергнуты мутагенезу *in vitro* (или, когда используются животные, трансгенные по последовательностям человеческого Ig, соматическому мутагенезу *in vivo*) и, таким образом, аминокислотные последовательности областей V_H и V_L рекомбинантных антител представляют собой последовательности, которые, хотя и происходят из последовательностей V_H и V_L зародышевой линии человека и связаны с ними, могут не существовать в природе в репертуаре антител зародышевой линии человека *in vivo*.

Необязательное конструирование антител

Анти-PVRIG антитела (например, анти-PVRIG антитела, в том числе с CDR, идентичными показанным на фиг. 3) по данному изобретению можно модифицировать или сконструировать для изменения аминокислотных последовательностей путем аминокислотных замен.

Под термином «аминокислотная замена» или «замена» в данном документе подразумевается замена аминокислоты в конкретном положении в родительской полипептидной последовательности на другую аминокислоту. В частности, в некоторых вариантах осуществления данного изобретения, замена представляет собой аминокислоту, которая не встречается в природе в конкретном положении, либо не встречается в природе в данном организме или в любом организме. Например, замена E272Y относится к вариантному полипептиду, в данном случае к варианту по Fc, в котором глутаминовая кислота в положении 272 заменена тирозином. Для ясности, белок, сконструированный путем изменения нуклеотидной кодирующей последовательности, но без изменения исходной аминокислоты (например, замена кодона CGG (кодирующего аргинин) на CGA (также кодирующий аргинин) с целью повышения уровней экспрессии в организме хозяина), не является «аминокислотной заменой»; т.е., несмотря на создание нового гена, кодирующего тот же белок, при условии, что данный белок содержит ту же аминокислоту в конкретном положении, что и изначально, это не является аминокислотной заменой.

Как обсуждается в данном документе, аминокислотные замены могут быть осуществлены с целью изменения аффинности CDR к PVRIG белку (включая как

увеличение, так и уменьшение связывания, как более подробно описано ниже), а также с целью изменения дополнительных функциональных свойств антител. Например, антитела можно сконструировать так, чтобы они содержали модификации в Fc-участке, обычно для изменения одной или более функциональных свойств антитела, таких как период полужизни в сыворотке, фиксация комплемента, связывание с рецептором Fc и/или антиген-зависимая клеточная цитотоксичность. Дополнительно, антитело согласно по меньшей мере некоторым вариантам осуществления данного изобретения можно химически модифицировать (например, одну или более химических групп можно присоединить к антителу) или можно модифицировать с целью изменения его гликозилирования, опять-таки, чтобы изменить одно или более функциональных свойств антитела. Такие варианты осуществления данного изобретения описаны ниже. Нумерация остатков в Fc-участка соответствует индексу EU Кабата.

В одном варианте осуществления данного изобретения, шарнирный участок C_H1 модифицирован таким образом, что количество остатков цистеина в шарнирном участке изменяется, например, увеличивается или уменьшается. Этот подход описан дополнительно в патенте США № 5677425, Bodmer et al. Количество остатков цистеина в шарнирном участке C_H1 изменяют, например, для облегчения сборки легкой и тяжелой цепей или для увеличения или уменьшения стабильности антитела.

В другом варианте осуществления данного изобретения, шарнирный участок Fc антитела мутирован для уменьшения биологического периода полужизни антитела. Более конкретно, одна или более аминокислотных мутаций вводятся в участок интерфейса домена C_H2-C_H3 фрагмента Fc-шарнира, так что антитело нарушает связывание белка A *Staphylococcy*l (SpA) по сравнению со связыванием SpA нативного Fc-шарнирного домена. Этот подход более подробно описан Ward et al. в патенте США № 6165745.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения аминокислотные замены можно осуществить в Fc-участке, в основном, для изменения связывания с рецепторами FcγR. Под термином «Fc гамма рецептор», «FcγR» или «Fc гамма R», в контексте данного документа, подразумевается любой представитель семейства белков, который связывает участок Fc антитела IgG и кодируется геном FcγR. У людей это семейство включает, но не ограничивается лишь этими: FcγRI (CD64), включая изоформы FcγRIa, FcγRIb и FcγRIc; FcγRII (CD32), включая изоформы FcγRIIa (включая аллотипы H131 и R131), FcγRIIb (включая FcγRIIb-1 и FcγRIIb-2) и FcγRIIc; и FcγRIII (CD16), включая изоформы FcγRIIIa (включая аллотипы V158 и F158) и FcγRIIIb (включая аллотипы FcγRIIIb-NA1 и FcγRIIIb-NA2) (Jefferis et al., 2002, Immunol Lett 82:57-65, включен в полном объеме в данный документ посредством ссылки) а также любые

неизвестные изоформы или аллотипы FcγRs или FcγR человека. FcγR может происходить из любого организма, включая, но не ограничиваясь лишь этими: организма людей, мышей, крыс, кроликов и обезьян. FcγR мыши включают, но не ограничиваются лишь этими: FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), FcγRIII-1 (CD16) и FcγRIII-2 (CD16-2), а также любые неизвестные изоформы или аллотипы FcγR или FcγR мыши.

Существует ряд пригодных замен Fc, которые можно осуществить для изменения связывания с одним или более рецепторов FcγR. Могут быть полезными замены, которые приводят к увеличению связывания, а также к уменьшению связывания. Например, известно, что увеличенное связывание с FcγRIIIa обычно приводит к увеличению АЗКЦ (антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности; клеточно-опосредованной реакции, при которой неспецифические цитотоксические клетки, которые экспрессируют FcγR, распознают связанное антитело на целевой клетке и впоследствии вызывают лизис целевой клетки. Аналогичным образом, в некоторых случаях также может быть полезным уменьшение связывания с FcγRIIb (ингибирующий рецептор). Аминокислотные замены, которые находят применение в данном изобретении, включают в себя замены, перечисленные в патенте США № 11/124620 (в частности, фиг. 41), и в патенте США № 6737056, оба из которых явным образом включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме и специально для описанных в них вариантов. Конкретные варианты, которые находят применение, включают следующие, но не ограничиваясь ими: 236A, 239D, 239E, 332E, 332D, 239D/332E, 267D, 267E, 328F, 267E/328F, 236A/332E, 239D/332E/330Y, 239D, 332E/330L, 299T и 297N.

Кроме того, антитела по данному изобретению модифицируют для увеличения их биологического периода полужизни. Существуют разные подходы. Например, можно ввести одну или большее количество из следующих мутаций: T252L, T254S, T256F, как описано в патенте США № 6277375 за авторством Ward. В альтернативном варианте, для увеличения биологического периода полужизни, антитело можно изменить в области C_{H1} или C_L таким образом, что оно будет содержать эпитоп связывания рецептора реутилизации, образованного из двух петель CH2-домена Fc-участка IgG, как описано Presta et al. в патентах США №№ 5869046 и 6121022. Дополнительные мутации для увеличения периода полужизни в сыворотке описаны в патентах США №№ 8883973, 6737056 и 7371826 и включают 428L, 434A, 434S и 428L/434S.

В других вариантах осуществления данного изобретения Fc-участок изменяют путем замены по меньшей мере одного аминокислотного остатка другим аминокислотным остатком для изменения эффекторных функций антитела. Например, одну или более аминокислот, выбранных из аминокислотных остатков 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320 и

322, можно заменить другим аминокислотным остатком, так что антитело будет иметь измененную аффинность к эффекторному лиганду, но сохранит антигенсвязывающую способность родительского антитела. Эффекторный лиганд, к которому изменяется аффинность, может быть, например, рецептором Fc или компонентом C1 комплемента. Этот подход более подробно описан в патентах США №№ 5624821 и 5648260, авторами которых являются Winter et al.

В другом примере, одну или более аминокислот, выбранных из аминокислотных остатков 329, 331 и 322, можно заменить другим аминокислотным остатком, так что антитело будет характеризоваться измененным связыванием C1q и/или уменьшенной или аннулированной комплементзависимой цитотоксичностью (КЗЦ). Этот подход более подробно описан Idusogie et al. в патенте США № 6194551.

В другом примере, один или большее количество аминокислотных остатков в аминокислотных положениях 231 и 239 изменяют, чтобы тем самым изменить способность антитела фиксировать комплемент. Этот подход дополнительно описан Bodmer et al. в публикации PCT WO 94/29351.

В еще одном примере Fc-участок модифицируют для увеличения способности антитела опосредовать антитело-зависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) и/или для увеличения аффинности антитела к рецептору Fcγ путем модификации одной или более аминокислот в следующих положениях: 238, 239, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 315, 320, 322, 324, 326, 327, 329, 330, 331, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 или 439. Этот подход дополнительно описан Presta в публикации PCT WO 00/42072. Кроме того, сайты связывания на IgG1 человека для FcγRI, FcγRII, FcγRIII и FcRn были картированы, и были описаны варианты с улучшенным связыванием (см. Shields, R. L. et al. (2001) *J. Biol. Chem.* 276:6591-6604). Пр продемонстрировано, что специфические мутации в положениях 256, 290, 298, 333, 334 и 339 улучшают связывание с FcγRIII. Кроме того, продемонстрировано, что следующие комбинации мутантов улучшают связывание FcγRIII: T256A/S298A, S298A/E333A, S298A/K224A и S298A/E333A/K334A. Кроме того, такие мутации, как M252Y/S254T/T256E или M428L/N434S, улучшают связывание с FcRn и увеличивают период полужизни циркулирующих антител (см. Chan CA and Carter PJ (2010) *Nature Rev Immunol* 10:301-316).

В еще одном варианте осуществления данного изобретения антитело может быть модифицировано для аннулирования обмена Fab-плеча *in vivo*. В частности, этот процесс включает в себя обмен полумолекул IgG4 (одна тяжелая цепь плюс одна легкая цепь)

между другими антителами IgG4, что приводит к эффективному образованию биспецифических антител, которые являются функционально моновалентными. Мутации в шарнирном участке и константных доменах тяжелой цепи могут аннулировать этот обмен (см. Aalberse, RC, Schuurman J., 2002, *Immunology* 105: 9-19).

В еще одном варианте осуществления данного изобретения модифицируют гликозилирование антитела. Например, может быть получено агликозилированное антитело (то есть антитело без гликозилирования). Гликозилирование может быть изменено, например, для увеличения аффинности антитела к антигену или снижения эффекторной функции, такой как АЗКЦ. Такие углеводные модификации могут быть осуществлены, например, путем изменения одного или более сайтов гликозилирования в последовательности антитела, например, N297. Например, можно осуществить одну или более аминокислотных замен, которые приводят к удалению одного или более сайтов гликозилирования каркаса вариабельного участка, чтобы таким образом устранить гликозилирование в этом сайте.

Дополнительно или в качестве альтернативы, может быть создано антитело с измененным типом гликозилирования, такое как гипофукозилированное антитело с уменьшенным количеством остатков фукозила, или антитело с увеличенным количеством бисекционных структур GlcNac. Было продемонстрировано, что такие измененные характеристики гликозилирования повышают АЗКЦ-способность антител. Такие углеводные модификации могут быть осуществлены, например, путем экспрессии антитела в клетке-хозяине с измененным аппаратом гликозилирования. Клетки с измененным аппаратом гликозилирования были описаны в данной области техники и могут применяться в качестве клеток-хозяев, в которых экспрессируются рекомбинантные антитела согласно по меньшей мере некоторым вариантам осуществления данного изобретения, в результате чего получают антитело с измененным гликозилированием. Например, в клеточных линиях Ms704, Ms705 и Ms709 отсутствует ген фукозилтрансферазы, FUT8 (α (1,6) фукозилтрансфераза), так что в антителах, экспрессируемых в клеточных линиях Ms704, Ms705 и Ms709, отсутствует фукоза на их углеводах. Клеточные линии Fs8 Ms704, Ms705 и Ms709 создают путем целенаправленного разрушения гена FUT8 в клетках CHO/DG44 с помощью двух замещающих векторов (см. публикацию патента США № 20040110704 Yamane et al. И Yamane-Ohnuki et al. (2004) *Biotechnol Bioeng* 87: 614-22). В качестве другого примера, в публикации Hanai et al. EP 1176195 описана клеточная линия с функционально разрушенным геном FUT8, который кодирует фукозилтрансферазу, в результате чего антитела, экспрессируемые в такой клеточной линии, демонстрируют

гипофукозилирование путем уменьшения активности или элиминации фермента, связанного с α 1,6-связью. Hanai et al. также описывают клеточные линии, которые обладают низкой ферментативной активностью при добавлении фукозы к N-ацетилглюкозамину, который связывается с Fc-участком антитела, или не обладают ферментативной активностью, например, клеточные линия клеток миеломы крысы YB2/0 (ATCC CRL 1662), В публикации PCT WO 03/035835, Presta, описан вариант клеточной линии CHO, клетки Lec 13, с уменьшенной способностью присоединять фукозу к Asn(297)-связанным углеводам, что также приводит к гипофукозилированию антител, экспрессируемых в этой клетке-хозяине (см. также, Shields, R. L. et al. (2002) *J. Biol. Chem.* 277:26733-26740). В публикации PCT WO 99/54342, Umana et al., описаны клеточные линии, сконструированные для экспрессии гликопротеин-модифицирующих гликозилтрансфераз (например, β (1,4)-N-ацетилглюкозаминилтрансфераза III (GnTIII)) таким образом, что антитела, экспрессируемые в сконструированных клеточных линиях, демонстрируют повышение количества бисекционных структур GlcNac, что приводит к увеличению активности АЗКЦ антител (см. также Umana et al. (1999) *Nat. Biotech.* 17:176-180). В альтернативном варианте, остатки фукозы антитела можно отщепить с помощью фермента фукозидазы. Например, фукозидаза α -L-фукозидаза удаляет фукозильные остатки из антител (Tarentino, AL et al. (1975) *Biochem.* 14: 5516-23).

Другой модификацией антител в данном документе, которая предлагается в данном изобретении, является пегилирование или добавление других растворимых в воде фрагментов, обычно полимеров, например, для увеличения периода полужизни. Антитело может быть пегилировано, например, для увеличения биологического (например, сывороточного) периода полужизни определенного антитела. Для пегилирования антитела, антитело или его фрагмент обычно подвергают взаимодействию с полиэтиленгликолем (ПЭГ), таким как реакционноспособный сложный эфир или альдегидное производное ПЭГ, в условиях, когда одна или более групп ПЭГ присоединяются к антителу или фрагменту антитела. Предпочтительно пегилирование осуществляют посредством реакции ацилирования или реакции алкилирования с помощью реакционноспособной молекулы ПЭГ (или аналогичного реакционноспособного водорастворимого полимера). В данном контексте под термином «полиэтиленгликоль» подразумевается любая форма ПЭГ, которая применялась для образования производных других белков, таких как моно (C₁-C₁₀)алкокси- или арилокси-полиэтиленгликоль или полиэтиленгликоль-малеимид. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения антитело, подлежащее пегилированию, представляет собой агликозилированное антитело. Способы пегилирования белков известны в данной области

техники и могут быть применены к антителам в соответствии по меньшей мере с некоторыми вариантами осуществления данного изобретения. См., например, публикацию EP 0 154 316, Nishimura et al., и публикацию EP 0401384, Ishikawa et al.

В дополнение к заменам, осуществленным для изменения аффинности связывания с FcγRs и/или FcRn, и/или для увеличения периода полужизни в сыворотке *in vivo*, можно осуществить дополнительные модификации антител, как более подробно описано ниже.

В некоторых случаях достигают созревания аффинности. Аминокислотные модификации в CDR иногда называют «созреванием аффинности». Антитело с «созревшей аффинностью» представляет собой антитело, имеющее одно или более изменений в одной или более CDR, что приводит к улучшению аффинности антитела к антигену по сравнению с родительским антителом, которое не обладает этими изменениями. В некоторых случаях, хотя и редко, может быть желательно уменьшить аффинность антитела к его антигену, но обычно это нежелательно.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения одну или более модификаций аминокислот вносят в одно или более CDR PVRIG антител по данному изобретению. Как правило, только 1, 2 или 3 аминокислоты замещают в любой отдельной CDR, и, как правило, не более чем из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 изменений вносятся в набор CDR. Однако следует понимать, что любая комбинация без замен, с 1, 2 или 3 заменами в любой CDR может независимо и необязательно сочетаться с любой другой заменой.

Созревание аффинности можно осуществлять для увеличения аффинности связывания антитела с PVRIG антигеном по меньшей мере от около 10% до 50-100-150% или более, или от 1 до 5 раз по сравнению с «родительским» антителом. Предпочтительные антитела с созревшей аффинностью будут иметь наномолярную или даже пикомолярную аффинность к PVRIG антигену. Антитела с созревшей аффинностью получают с помощью известных способов. См., например, публикацию Marks et al., 1992, *Biotechnology* 10: 779-783, в которой описано созревание аффинности с помощью перестановки доменов варибельной тяжелой цепи (VH) и варибельной легкой цепи (VL). Случайный мутагенез остатков CDR и/или каркаса описан в публикациях: Barbas, et al. 1994, *Proc. Nat. Acad. Sci, USA* 91:3809-3813; Shier et al., 1995, *Gene* 169:147-155; Yelton et al., 1995, *J. Immunol.* 155: 1994-2004; Jackson et al., 1995, *J. Immunol.* 154 (7): 3310-9; и Hawkins et al., 1992, *J. Mol. Biol.* 226: 889-896, например.

В другом варианте, аминокислотные модификации могут быть сделаны в одном или более CDR в антителах согласно данному изобретению, которые являются «молчащими» – например, которые существенно не изменяют аффинность антитела к

антигену. Это может быть сделано по ряду причин, включая оптимизацию экспрессии (как это может быть осуществлено для нуклеиновых кислот, кодирующих антитела согласно данному изобретению).

Таким образом, в определение CDR и антител по данному изобретению включены варианты CDR и антител; то есть антитела по данному изобретению могут включать модификации аминокислот в одном или более CDR перечисленных антител по данному изобретению. Кроме того, как указано ниже, аминокислотные модификации также могут быть независимо и необязательно сделаны в любом участке за пределами CDR, включая каркасные и константные участки.

Антитела PVRIG

Данное изобретение относится к анти-PVRIG антителам. (Для удобства термины «анти-PVRIG антитела» и «антитела PVRIG» используются взаимозаменяемо). Анти-PVRIG антитела по данному изобретению специфически связываются с PVRIG человека и, предпочтительно, с ECD PVRIG1 человека, как показано на фиг. 3, включая, например, анти-PVRIG антитела, в том числе с CDR, идентичными CDR, показанными на фиг. 3.

Может проявляться специфическое связывание с PVRIG или эпитопом PVRIG, например, антителом, имеющим KD по меньшей мере около 10^{-4} M, по меньшей мере около 10^{-5} M, по меньшей мере около 10^{-6} M, по меньшей мере около 10^{-7} M, по меньшей мере около 10^{-8} M, по меньшей мере около 10^{-9} M, по меньшей мере около 10^{-10} M, по меньшей мере около 10^{-11} M, по меньшей мере около 10^{-12} M, или больше, где KD относится к скорости диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антигена. Как правило, антитело, которое специфически связывает антиген, будет иметь KD, которая в 20, 50, 100, 500, 1000, 5000, 10000 или больше раз выше для контрольной молекулы относительно антигена PVRIG или эпитопа.

Однако, как показано в примерах для оптимального связывания с PVRIG, экспрессируемом на поверхности НК- и Т-клеток, антитела предпочтительно имеют KD менее чем 50 нМ и наиболее предпочтительно меньше чем 1 нМ, с менее чем 0,1 нМ и менее чем 1 пМ и 0,1 пМ обнаружения, использованного в способах согласно данному изобретению.

Также, специфическое связывание для конкретного антигена или эпитопа может проявляться, например, антителом, имеющим показатель КА или Ка для антигена или эпитопа PVRIG, составляющий о меньшей мере в 20-, 50-, 100-, 500-, 1000-, 5000-, 10000- или более раз больше чем для эпитопа по сравнению с контролем, где КА или Ка обозначает скорость ассоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анти-PVRIG антитела

согласно данному изобретению связываются с PVRIG человека с K_D 100 нМ или меньше, 50 нМ или меньше, 10 нМ или меньше, или 1 нМ или меньше (то есть, более высокой аффинностью связывания), или 1 пМ или меньше, при этом K_D определяют с помощью известных способов, например, поверхностного плазмонного резонанса (SPR, например, анализы Biacore), ИФА, KINEXA, и наиболее типично SPR при 25° или 37°C.

Данное изобретение относится к антигенсвязывающим доменам, включая полноразмерные антитела, которые содержат ряд специфических, перечисленных наборов из 6 CDR, как представлено на фиг. 3. Данное изобретение относится к антигенсвязывающим доменам, включая полноразмерные антитела, которые содержат ряд специфических, перечисленных наборов из 6 CDR, как представлено на фиг. 3.

В данном изобретении дополнительно предлагаются вариabельные домены тяжелой и легкой цепей, а также полноразмерные тяжелые и легкие цепи.

Как обсуждается в данном документе, изобретение дополнительно предлагает варианты вышеуказанных компонентов, включая варианты в CDR, как обозначено выше. Кроме того, вариabельные домены тяжелых цепей могут быть на по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичными последовательностям «VH» в данном документе и/или содержать от 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 аминокислотных замен или более, когда применяются варианты Fc. Представлены вариabельные легкие цепи, которые могут быть по меньшей мере на по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичными последовательностям «VL» в данном документе и/или содержать от 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 аминокислотных замен или более, когда применяются варианты Fc. Точно так же предусмотрены тяжелые и легкие цепи, которые могут быть по меньшей мере на по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичными последовательностям «HC» и «LC» в данном документе и/или содержать от 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 аминокислотных замен или более, когда применяются варианты Fc.

Соответственно, в данном изобретении предлагаются антитела, обычно полноразмерные или домены scFv, которые содержат следующие CHA наборы CDR, последовательности которых продемонстрированы на фиг. 3:

CHA.7.518.1.H4(S241P)vhCDR1,	CHA.7.518.1.H4(S241P)vhCDR2,
CHA.7.518.1.H4(S241P)vhCDR3,	CHA.7.518.1.H4(S241P)vlCDR1,
CHA.7.518.1.H4(S241P)vlCDR2, и	CHA.7.518.1.H4(S241P)vlCDR3.

Кроме того, каркасные области вариabельных тяжелых и вариabельных легких цепей могут быть гуманизированы, как известно в данной области техники (при

необходимости в CDR генерируются случайные варианты), и, таким образом, могут быть созданы гуманизированные варианты цепей VH и VL, продемонстрированных на фиг. 3. Дополнительно, гуманизированные переменные домены тяжелой и легкой цепей затем могут быть слиты с константными участками человека, такими как константные участки из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

Кроме того, также включены последовательности, которые могут иметь идентичные CDR, но быть изменены в переменном домене (или всей тяжелой или легкой цепи). Например, антитела к PVRIG включают в себе антитела с CDR, которые идентичны тем, которые показаны на фиг. 3 или фиг. 5A-5D, но идентичность которых вдоль переменного участка может быть ниже, например, с процентом идентичности 95% или 98%. Например, антитела к PVRIG включают в себя антитела с CDR, которые идентичны тем, которые показаны на фиг. 3, но чья идентичность вдоль переменного участка может быть ниже, чем например, 95% или 98% идентичности, а в некоторых вариантах осуществления данного изобретения по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98%.

Процент идентичности между двумя аминокислотными последовательностями можно определить с помощью алгоритма E. Meyers и W. Miller (*Comput. Appl. Biosci*, 4: 11-17 (1988)), который включен в программу ALIGN (версия 2.0), с применением таблицы веса остатков PAM120, длины гэпа 12 и штрафа за гэп в последовательности 4. Кроме того, процент идентичности между двумя аминокислотными последовательностями можно определить с помощью алгоритма Needleman и Wunsch (*J. Mol. Biol.* 48: 444-453 (1970)), который включен в программу GAP в пакете программного обеспечения GCG (имеется в продаже), с применением либо матрицы Blossum 62, либо матрицы PAM250, вес гэпа 16, 14, 12, 10, 8, 6 или 4, и штраф за удлинение гэпа 1, 2, 3, 4, 5 или 6.

В дополнительном или альтернативном варианте, белковые последовательности согласно данному изобретению можно дополнительно использовать в качестве «последовательности запроса» для выполнения поиска в общедоступных базах данных, например, для идентификации родственных последовательностей. Такой поиск может быть выполнен с помощью программы XBLAST (версия 2.0) от Altschul, et al. (1990) *J Mol. Biol.* 215:403-10. Поиски белков с помощью BLAST могут быть выполнены с помощью программы XBLAST, бал = 50, длина слова = 3, для получения аминокислотных последовательностей, гомологичных молекулам антител, согласно, по меньшей мере, некоторым вариантам осуществления данного изобретения. Чтобы получить выравнивания с пробелами для целей сравнения, можно использовать Gapped BLAST, как описано в Altschul et al., (1997) *Nucleic Acids Res.* 25(17):3389-3402. При использовании

программ BLAST и Gapped BLAST можно использовать параметры по умолчанию соответствующих программ (например, XBLAST и NBLAST).

В целом, процент идентичности для сравнения между антителами к PVRIg составляет по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, при этом предпочтительным является процент идентичности по меньшей мере около 95%, 96%, 97%, 98% или 99%. Процент идентичности может быть вдоль всей аминокислотной последовательности, например, всей тяжелой или легкой цепи, или вдоль части цепей. Например, в определение анти-PVRIg антител согласно данному изобретению включены антитела, которые имеют идентичность вдоль всего вариабельного участка (например, когда идентичность составляет 95% или 98% идентичности вдоль вариабельных участков, и в некоторых вариантах осуществления данного изобретения по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98%), или вдоль всего константного участка, или вдоль только домена Fc.

Составы анти-PVRIg антител

Композиции анти-PVRIg антител и/или их антигенсвязывающих частей (например, анти-PVRIg антитела, включая антитела с CDR, идентичными показанным на фиг. 3) могут быть включены в состав фармацевтических композиций, содержащих носитель, подходящий для желаемого способа доставки. Пригодные носители включают в себя любое вещество, которое в комбинации с терапевтической композицией сохраняет противоопухолевую функцию терапевтической композиции и, как правило, не вызывает реакции иммунной системы пациента. Примеры включают в себя, но не ограничиваются любым из ряда стандартных фармацевтических носителей, таких как стерильные фосфатно-солевые буферные растворы, бактериостатическая вода и т.п. (см., в целом, Remington's Pharmaceutical Sciences 16th Edition, A. Osal., Ed., 1980). Приемлемые носители, эксципиенты или стабилизаторы являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях, и включают в себя буферы, такие как фосфатный, цитратный, ацетатный и на основе других органических кислот; антиоксиданты, в том числе аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как октадецилдиметилбензила аммонийхлорид; гексаметония хлорид; бензалкония хлорид, бензетония хлорид; феноловый, бутиловый или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен; катехол; резорцинол; циклогексанол; 3-пентанол; и м-крезол); низкомолекулярные (менее чем приблизительно 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, в

том числе глюкоза, манноза или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; подсластители и другие ароматизаторы; наполнители, такие как микрокристаллическая целлюлоза, лактоза, кукурузный и другие крахмалы; связующие вещества; добавки; красящие вещества; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, комплексы Zn – белок); и (или) неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, PLURONICS™ или полиэтиленгликоль (ПЭГ).

В предпочтительном варианте осуществления данного изобретения фармацевтическая композиция, которая содержит анти-PVRIG антитела, в том числе с CDR, идентичные показанным на фиг. 3) по данному изобретению, может быть в водорастворимой форме, такой как присутствующая в виде фармацевтически приемлемых солей, которая должна включать как соль присоединения кислоты, так и соль присоединения основания. «Фармацевтически приемлемая соль присоединения кислоты» относится к тем солям, которые сохраняют биологическую эффективность свободных оснований и которые не являются нежелательными с биологической или иной точки зрения, образованные с неорганическими кислотами, такими как соляная кислота, бромистоводородная кислота, серная кислота, азотная кислота, фосфорная кислота и т.п., и органические кислоты, такие как уксусная кислота, пропионовая кислота, гликолевая кислота, пировиноградная кислота, щавелевая кислота, малеиновая кислота, малоновая кислота, янтарная кислота, фумаровая кислота, винная кислота, лимонная кислота, бензойная кислота, коричная кислота, миндальная кислота, метансульфо-кислота, этансульфо-кислота, п-толуолсульфо-кислота, салициловая кислота и т.п. «Фармацевтически приемлемые основно-аддитивные соли» включают соли, полученные из неорганических оснований, таких как соли натрия, калия, лития, аммония, кальция, магния, железа, цинка, меди, марганца, алюминия и т.п. Особенно предпочтительными являются соли аммония, калия, натрия, кальция и магния. Соли, полученные из фармацевтически приемлемых органических нетоксичных оснований, включают соли первичных, вторичных и третичных аминов, замещенные амины, включая встречающиеся в природе замещенные амины, циклические амины и основные ионообменные смолы, такие как изопропиламин, триметиламин, диэтиламин, триэтиламин, трипропиламин и этаноламин. Составы, применяемые для введения *in vivo*, предпочтительно являются стерильными. Это легко достигается с помощью фильтрации с использованием стерильных фильтрующих мембран или других способов.

Используемый в данном документе термин «активность» относится к функциональной активности или активности анти-PVRIG антител и/или их

антигенсвязывающих частей. Функциональная активность включает, но не ограничивается ими, биологическую активность или аффинность связывания.

Используемый в данном документе термин «стабильность» используется в структурном контексте, например, относящемся к структурной целостности анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, или в функциональном контексте, например, в отношении способности анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части сохранять свою функцию и/или активность с течением времени (например, включая стабильность анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части или стабильность состава анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, при этом анти-PVRIG антитело содержит CDR, идентичные CDR, показанным на фиг. 3). Понятно, что обсуждаемое анти-PVRIG антитело и/или его антигенсвязывающая часть могут содержаться в составе в соответствии с описанными в данном документе способами и композициями, и стабильность этого белка относится к его стабильности в этом составе. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильность композиции анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части определяют путем измерения связывающей активности композиции, включая, например, использование анализов, описанных в заявке и фигурах, представленных в данном документе, а также в качестве других применимых анализов, известных в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильность композиции анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, составленной с сахаром, сахарным спиртом и/или неионогенным поверхностно-активным веществом, как описано в данном документе, сравнивается со стабильностью анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей частью его композиции, составленной без по меньшей мере одной аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества и/или с другой комбинацией компонентов. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения состав не содержит сахара и/или сахарного спирта.

Используемый в данном документе термин «стабильная при хранении» водная композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части относится к раствору анти-PVRIG антитела и/или его связывающей антигена части, который был составлен для повышения стабильности белка в растворе, например, по меньшей мере на 10%, в течение заданного времени хранения. В контексте данного изобретения анти-PVRIG антитело и/или его антигенсвязывающая часть могут быть сделаны «стабильными при хранении» путем добавления по меньшей мере одной аминокислоты, соли или неионогенного поверхностно-активного вещества в качестве стабилизирующего агента. В

некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильность анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части в любом данном составе можно измерить, например, путем мониторинга образования агрегатов, потери объемной связывающей активности или образования продуктов деградации в течение периода времени. Абсолютная стабильность состава и стабилизирующие эффекты сахара, сахарного спирта или неионогенного поверхностно-активного вещества будут варьироваться в зависимости от конкретной стабилизируемой композиции. В одном варианте осуществления данного изобретения, стабильность композиции анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части определяют путем измерения связывающей активности композиции анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. Например, с помощью ИФА или другого анализа активности связывания. В одном варианте осуществления данного изобретения, стабильность композиции анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, составленной с сахаром, сахарным спиртом и/или неионогенным поверхностно-активным веществом, как описано в данном документе, сравнивается со стабильностью анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей частью его композиции, составленной без по меньшей мере одной аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества и/или с другой комбинацией компонентов. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения состав не содержит сахара и/или сахарного спирта.

Используемый в данном документе, термин «срок хранения» относится к периоду времени, в течение которого состав сохраняет заданный уровень стабильности при заданной температуре. В конкретных вариантах осуществления данного изобретения, заданная температура относится к температуре замораживания (например, от -80°C , -25°C , 0°C), охлаждения (например, от 0° до 10°C) или комнатной температуре (например, от 18°C до 32°C) хранения.

Используемый в данном документе, термин «время стабильности» относится к продолжительности времени, в течение которого состав считается стабильным. Например, время стабильности состава может относиться к продолжительности времени, в течение которого уровень агрегации и/или деградации белка в составе остается ниже определенного порога (например, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, и т.д.), и/или продолжительность времени, в течение которого состав сохраняет биологическую активность выше определенного порога (например, 100%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50% и т.д.) от количества активности (включая, например, связывающую активность), присутствующей в составе в начале периода хранения.

В контексте данного изобретения стабильная при хранении водная композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, составленная с сахаром, сахарным спиртом и/или неионогенным поверхностно-активным веществом, будет иметь более длительное время стабильности, чем композиция из того же анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, составленная без по меньшей мере одной аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильная при хранении водная композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части будет иметь время стабильности, которое, например, по меньшей мере на 10% больше, чем время стабильности для композиции анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, составленной в отсутствие по меньшей мере одной аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества, или по меньшей мере 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, 160%, 170%, 180%, 190% больше, или по меньшей мере в 2 раза больше, или по меньшей мере в 2,5 раза, 3,0 раза, 3,5 раза, 4,0 раза, 4,5 раза, 5,0 раза, 5,5 раза, 6,0 раз, 6,5 раза, 7,0 раза, 7,5 раза, 8,0 раза, 8,5 раза, 9,0 раза, 9,5 раза, 10 раз или более раз больше времени стабильности композиции анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части составлены в отсутствие, по меньшей мере, аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества.

Используемый в данном документе термин «BDS» относится к «нерасфасованной лекарственной субстанции»

Стабилизированные жидкие составы

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабилизированным водным составам анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части (например, анти-PVRIG антитела, включая антитела с CDR, идентичными показанным на фиг. 3). Следующие варианты осуществления данного изобретения частично основаны на открытии того, что включение по меньшей мере одной аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества стабилизирует композицию жидкого анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части по сравнению с композициями, не содержащими по меньшей мере одну аминокислоту, соль и/или неионогенное поверхностно-активное вещество. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения состав не содержит сахара и/или сахарного спирта.

Как будет понятно специалисту в данной области техники, анти-PVRIG антитело и/или его антигенсвязывающая часть, составленные в соответствии с вариантами

осуществления данного изобретения, представленными в данном документе, могут содержать, в дополнение к явно описанным компонентам, противоионы, внесенные за счет включения раствора компоненты или агенты, изменяющие рН, например, натрий или калий, вносимый из ацетатной соли, гидроксид натрия или гидроксид или хлорид калия, вносимый хлоридом кальция или соляной кислотой. В контексте данного изобретения стабильная при хранении композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, состоящая из данного состава или по существу состоящая из него, может дополнительно содержать один или более противоионов, как того требует процесс приготовления состава, при определенном рН.

В одном варианте осуществления данного изобретения, устойчивое при хранении анти-PVRIG антитело и/или его антигенсвязывающая часть, предложенные в данном документе, будут стабилизироваться при температуре охлаждения (т.е. от 2°C до 10°C) в течение определенного периода времени. Например, в одном варианте осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, будут стабильными при хранении при температуре охлаждения в течение по меньшей мере 4 дней. В других вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной при температуре охлаждения в течение по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 21, 28 и более дней. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель, 10 недель или более. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение по меньшей мере 1 месяца. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция будет стабильной в течение по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48 и более месяцев. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение продолжительного периода времени при хранении при температуре от 2°C до 8°C.

В одном варианте осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, будут стабилизироваться при комнатной температуре (т.е. от 18°C до 32°C) в течение

определенного периода времени. Например, в одном варианте осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, будут стабильными при хранении при комнатной температуре в течение по меньшей мере 4 дней. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной при комнатной температуре в течение по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 21, 28 и более дней. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель, 6 недель или более. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение по меньшей мере 1 месяца. В еще других вариантах осуществления данного изобретения, композиция будет стабильной в течение по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48 и более месяцев. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, комнатная температура относится к между 20°C до 30°C, между 21°C до 29°C, между 22°C до 28°C, между 23°C до 27°C, между 24°C до 26 °C или около 25°C. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение продолжительного периода времени при хранении при температуре от 20°C до 25°C. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение продолжительного периода времени при хранении при температуре около 25°C.

В одном варианте осуществления данного изобретения, устойчивое при хранении анти-PVRIG антитело и/или его антигенсвязывающая часть, предложенные в данном документе, будут стабилизироваться при повышенной температуре (т.е. от 32°C до 42°C) в течение определенного периода времени. Например, в одном варианте осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, будут стабильными при хранении при повышенной температуре в течение по меньшей мере 4 дней. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной при повышенной температуре в течение по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 21, 28 и более дней. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или

антигенсвязывающей части будет стабильной в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель и более. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение по меньшей мере 1 месяца. В еще других вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48 и более месяцев. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение продолжительного периода времени при хранении при температуре от 35°C до 40°C.

В одном варианте осуществления данного изобретения, хранимая композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части считается стабильной при хранении до тех пор, пока композиция сохраняет по меньшей мере 40% активности связывания антитела, присутствующей в начале периода хранения (например, в момент времени = 0). В другом варианте осуществления данного изобретения, хранимая композиция считается стабильной до тех пор, пока композиция сохраняет по меньшей мере 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или более активности связывания антител, присутствующей в начале периода хранения (например, в момент времени = 0). В одном варианте осуществления данного изобретения, активность связывания антител измеряют с помощью любого анализа, известного в данной области техники.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части считается стабилизированной путем добавления стабилизирующего агента (например, по меньшей мере одной аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества), когда анти-PVRIG антитело и/или композиция антигенсвязывающей части обладает по меньшей мере на 10% большей активностью связывания антитела после хранения в течение определенного периода времени по сравнению с композицией анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части, не содержащей стабилизирующего агента или содержащей меньшее количество стабилизатора. В других вариантах осуществления данного изобретения, считается, что композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части стабилизирована добавлением стабилизирующего агента (например, по меньшей мере одной аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества), когда состав содержит не менее 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%,

65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100% или больший процент большей активности анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части после хранения в течение определенного периода времени по сравнению с композицией анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части, не содержащей стабилизатора или содержащий меньшее количество стабилизатора.

В одном варианте осуществления данного изобретения, хранимая композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части считается стабильной до тех пор, пока процентное содержание анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части, присутствующих в агрегированном состоянии, остается не более чем 50%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, хранимая композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части считается стабильной до тех пор, пока процентное содержание анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, присутствующих в агрегированном состоянии, остается не более чем 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 24%, 23%, 22%, 21%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или менее.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части считается стабилизированной путем добавления стабилизирующего агента (композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части, по меньшей мере одной аминокислоты, соли, и/или неионогенное поверхностно-активное вещество), когда композиция содержит по меньшей мере на 10% меньше анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, присутствующих в агрегированном состоянии после хранения в течение определенного периода времени, по сравнению с композицией анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части, не содержащей стабилизирующего агента или содержащей меньшее количество стабилизирующего агента. В других вариантах осуществления данного изобретения, считается, что композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части стабилизирована добавлением стабилизирующего агента (например, по меньшей мере одной аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества), когда состав содержит не менее 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100% или больший процент меньшего количества антитела против PVRIG и/или антигенсвязывающей части, присутствующих в агрегированном состоянии после хранения в течение определенного периода времени, по сравнению с композицией анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части, не содержащей стабилизатора или содержащий меньшее количество стабилизатора.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция хранимого анти-PVRIG антитела и/или композиции антигенсвязывающей части считается стабильной до тех пор, пока композиция сохраняет по меньшей мере 40% исходной активности связывания (например, в момент времени = 0) после воздействия механического стресса. В другом варианте осуществления данного изобретения, хранимая композиция считается стабильной до тех пор, пока композиция сохраняет 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или более начальной связывающей активности (например, в момент времени = 0) после механического воздействия. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, механическое воздействие представляет собой перемешивание (например, встряхивание).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части считается стабилизированной путем добавления стабилизирующего агента (например, по меньшей мере одной аминокислоты, соли или неионогенного поверхностно-активного вещества), когда композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части обладает по меньшей мере на 10% большей связывающей активностью после механического стресса по сравнению с композицией анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части, не содержащей стабилизирующего агента или содержащей меньшее количество стабилизирующего агента. В других вариантах осуществления данного изобретения, считается, что композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части стабилизирована добавлением стабилизирующего агента (например, сахара, сахарного спирта или неионогенного поверхностно-активного вещества), если композиция содержит по меньшей мере 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100% или больший процент большей фуриновой активности после воздействия механического стресса по сравнению с композицией анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части, не содержащей стабилизирующего агента или содержащей меньшее количество стабилизирующего агента. В конкретном варианте осуществления данного изобретения, механическое воздействие представляет собой перемешивание (например, встряхивание).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, хранимая композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части считается стабильной до тех пор, пока процентное содержание анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части, присутствующая в агрегированном состоянии, остается не более 50% после механического воздействия. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, хранимая композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части

считается стабильной до тех пор, пока процентное содержание анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части, присутствующих в агрегированном состоянии, остается не более чем 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 24%, 23%, 22%, 21%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или менее после механического воздействия. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, механическое воздействие представляет собой перемешивание (например, встряхивание).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части считается стабилизированной путем добавления стабилизирующего агента (например, по меньшей мере одной аминокислоты, соли или неионогенного поверхностно-активного вещества), если композиция содержит по меньшей мере на 10% меньше анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, присутствующих в агрегированном состоянии после механического стресса, по сравнению с композицией анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части, не содержащей стабилизирующего агента или содержащей меньшее количество стабилизатора. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, считается, что композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части стабилизирована добавлением стабилизирующего агента (например, по меньшей мере одной аминокислоты, соли или неионогенного поверхностно-активного вещества), когда состав содержит не менее 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100% или больший процент меньшего количества антитела против PVRIG и/или антигенсвязывающей части, присутствующих в агрегированном состоянии после воздействия механического стресса, по сравнению с композицией анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части, не содержащей стабилизатора или содержащий меньшее количество стабилизатора. В конкретном варианте осуществления данного изобретения, механическое воздействие представляет собой перемешивание (например, встряхивание).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, высокостабилизированные составы по изобретению имеют срок хранения по меньшей мере 6 месяцев. Понятно, что этот срок хранения может быть при температуре замораживания (т.е. от -80°C, -25°C, 0°C), температуре охлаждения (от 0°C до 10°C) или при комнатной температуре (от 20°C до 32°C) в жидком или лиофилизированном виде. В других аспектах высокостабилизированные составы по изобретению имеют срок хранения по меньшей мере 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 или 60 месяцев.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, срок хранения определяется процентом активности, оставшейся после хранения при любой из указанных

выше температур в течение любого из указанных выше периодов времени. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, срок годности означает, что состав сохраняет по меньшей мере 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% активности фурина, измеренной любым из анализов, описанных в данном документе или известных в данной области, по сравнению с активностью перед хранением в течение любого из указанных выше периодов времени при любой из указанных выше температур.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела, содержащему:

(а) анти-PVRIG антитело, при этом анти-PVRIG антитело содержит антитело с CDR, идентичными показанным на фиг. 3;

(b) 25 mM гистидина;

(c) 60 mM NaCl;

(d) 100 mM L-аргинина и

(e) 0,01% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анти-PVRIG антитело находится в концентрации от 10 мг/мл до 40 мг/мл, от 15 мг/мл до 40 мг/мл, от 15 мг/мл до 30 мг/мл, от 10 мг/мл до 25 мг/мл или от 15 мг/мл до 25 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анти-PVRIG антитело находится в концентрации от 10 мг/мл до 40 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анти-PVRIG антитело находится в концентрации от 15 мг/мл до 40 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анти-PVRIG антитело находится в концентрации от 15 мг/мл до 30 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анти-PVRIG антитело находится в концентрации от 10 мг/мл до 25 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анти-PVRIG антитело находится в концентрации от 15 мг/мл до 25 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анти-PVRIG антитело находится в концентрации от 10 мг/мл до 25 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анти-PVRIG антитело находится в концентрации от 15 мг/мл до 25 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анти-PVRIG антитело находится в концентрации от 20 мг/мл до 25 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анти-PVRIG антитело находится в концентрации около 20 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, данное изобретение

относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела, содержащему:

(а) анти-PVRIG антитело, при этом анти-PVRIG антитело содержит антитело с CDR, идентичными показанным на фиг. 3;

(b) от 10 mM до 100 mM гистидина;

(с) от 30 mM до 100 mM NaCl;

(d) от 20 mM до 150 mM L-аргинина и

(е) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

Аминокислоты

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, анти-PVRIG антитела, включая антитела с CDR, идентичными показанным на фиг. 3) содержащий по меньшей мере одну аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, по меньшей мере одна аминокислота представляет собой гистидин. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, по меньшей мере одна аминокислота представляет собой аргинин. В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащему по меньшей мере две аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, по меньшей мере две аминокислоты представляют собой гистидин и аргинин.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 10 mM до 80 mM гистидина, от 15 mM до 70 mM гистидина, от 20 mM до 60 mM гистидина, от 20 mM до 50 mM гистидина или от 20 mM до 30 mM гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 10 mM до 80 mM гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 15 mM до 70 mM гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 20 mM до 60 mM гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 20 mM до 50 mM гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 20 mM до 30 mM гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит около 25 mM гистидина.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический

состав содержит от 10 мМ до 80 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 15 мМ до 70 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 60 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 50 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 30 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит около 25 мМ гистидина.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 140 мМ L-аргинина, от 30 мМ до 140 мМ L-аргинина, от 40 мМ до 130 мМ L-аргинина, от 50 мМ до 120 мМ L-аргинина, от 60 мМ до 110 мМ L-аргинина, от 70 мМ до 110 мМ L-аргинина, от 80 мМ до 110 мМ L-аргинина или от 90 мМ до 110 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 140 мМ L-аргинина, от 30 мМ до 140 мМ L-аргинина, от 40 мМ до 130 мМ L-аргинина, от 50 мМ до 120 мМ L-аргинина, от 60 мМ до 110 мМ L-аргинина, от 70 мМ до 110 мМ L-аргинина, от 80 мМ до 110 мМ L-аргинина или от 90 мМ до 110 мМ L-аргинина.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 140 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 30 мМ до 140 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 40 мМ до 130 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 50 мМ до 120 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 60 мМ до 110 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 70 мМ до 110 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 80 мМ до 110 мМ L-аргинина.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 90 мМ до 110 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит около 100 мМ L-аргинина.

Сахар и/или сахарный спирт

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, анти-PVRIG антитела, включая антитела с

CDR, идентичными показанным на фиг. 3) не содержащему сахара и/или сахарный спирт. В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, анти-PVRIG антитела, включая антитела с CDR, идентичными показанным на фиг. 3) не содержащему сахара. В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, анти-PVRIG антитела, включая антитела с CDR, идентичными показанным на фиг. 3) не содержащему сахарный спирт.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащему сахара и/или сахарный спирт. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, сахар представляет собой трегалозу или сахарозу. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, сахар представляет собой трегалозу. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, сахар представляет собой сахарозу. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, сахар представляет собой только одно из трегалозы или сахарозы, но не оба.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, сахар находится в количестве от около 0,5% до 10%, от 1% до 9,5%, от 1,5% до 9%, от 2,0% до 8,5%, от 2,5% до 8%, от 3,0% до 7,5%, 3,5% до 7%, от 4,0% до 6,5%, от 4,5% до 6% и/или от 4,5% до 5,5%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, сахар присутствует в количестве примерно от около 0,5% до 10%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, содержание сахара составляет от около 1% до 9,5%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, сахар находится в количестве от около 1,5% до 9%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, сахар присутствует в количестве от около 2,0% до 8,5%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, сахар находится в количестве от около 2,5% до 8%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, сахар находится в количестве от около 3,0% до 7,5%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, сахар находится в количестве от около 3,5% до 7%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, сахар находится в количестве от около 4,0% до 6,5%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, сахар находится в количестве от около 4,5% до 6%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, сахар находится в количестве от около 4,5% до 5,5%. В некоторых вариантах осуществления данного

изобретения, сахар присутствует в количестве около 5%.

Неионогенные поверхностно-активные вещества

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, анти-PVRIG антитела, включая антитела с CDR, идентичными показанным на фиг. 3) содержащему неионогенное поверхностно-активное вещество. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильные при хранении композиции анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента содержат неионогенное поверхностно-активное вещество, выбранное из неионогенного водорастворимого моноглицерида, неионогенного водорастворимого диглицерида, неионогенного водорастворимого триглицерида, неионогенных водорастворимых эфиров моножирных кислот полиэтиленгликоля, неионогенных водорастворимых эфиров дижирных кислот полиэтиленгликоля, неионогенных водорастворимых эфиров сорбитана и жирных кислот, неионогенных полиглицеролизированных глицеридов, неионогенных водорастворимых триблок-сополимеров и их комбинации. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, неионогенное поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 80 (полиоксиэтилен(20)сорбитанмоноолеат).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,006% до 0,1% масс./об. полисорбата 80, от 0,007% до 0,09% масс./об. полисорбата 80, от 0,008% до 0,08% масс./об. полисорбата 80, от 0,009% до 0,09% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,08% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80 или от 0,01% до 0,06% масс./об. полисорбата 80 или от 0,009% до 0,05% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,006% до 0,1% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,007% до 0,09% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,008% до 0,08% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,009% до 0,09% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,01% до 0,08% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий

фармацевтический состав содержит от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,01% до 0,06% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,009% до 0,05% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит около 0,01% полисорбата 80.

Фармацевтически приемлемые соли

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение обеспечивает относится к жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, анти-PVRIG антитела, включая антитела с CDR, идентичными показанным на фиг. 3) содержащему соль, например, фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав, содержащий анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленный в данном документе, включает фармацевтически приемлемую соль в концентрации, переносимой анти-PVRIG антителом или его антигенсвязывающим фрагментом во время хранения. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтически приемлемая соль представляет собой соль хлорида. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтически приемлемая соль представляет собой соль одновалентного хлорида. В более конкретном варианте осуществления данного изобретения, фармацевтически приемлемая соль представляет собой хлорид натрия, хлорид калия или их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 30 mM до 100 mM NaCl, от 30 mM до 90 mM NaCl, от 40 mM до 80 mM NaCl, от 30 mM до 70 mM гистидина или от 45 mM до 70 mM NaCl.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 30 mM до 100 mM NaCl. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 30 mM до 90 mM NaCl. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 40 mM до 80 mM NaCl. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 30 mM до 70 mM гистидина. В некоторых

вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 45 мМ до 70 мМ NaCl. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит около 60 мМ NaCl.

Буферные агенты

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, анти-PVRIG антитела, включая антитела с CDR, идентичными показанным на фиг. 3) который забуферен при физиологически приемлемом pH. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, физиологически приемлемый pH составляет от около 6,0 до около 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента имеет pH от 6 до 7,0. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента имеет pH 6, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9 или 7,0. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, pH от 6,1 до 6,9. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, pH от 6,2 до 6,9. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, pH от 6,3 до 6,8. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, pH от 6,3 до 6,7. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, pH от 6,4 до 6,8. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, pH от 6,5 до 6,8. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, pH от 6,6 до 6,8. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, pH 6,3, 6,4, 6,5, 6,6 или 6,7. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, pH 6,5 +/- 0,2.

Способы разбавления водных композиций

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, способ включает добавление буфера для разведения для получения разбавленного стабильного жидкого фармацевтического состава, содержащего анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, анти-PVRIG антитела, включая антитела с CDR, идентичными показанным на фиг. 3). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, буфер для разведения добавляют в соотношении от 1:1 (буфер для разведения:состав) до 1000:1 (буфер для разведения:состав). В другом варианте осуществления данного изобретения, буфер для разведения добавляют в соотношении от 1:1 буфер для разведения:состав до 500:1 (буфер для разведения:состав). В другом варианте осуществления данного изобретения, буфер для разведения добавляют в

соотношении от 1:1 (буфер для разведения:состав) до 250:1 (буфер для разведения:состав). В другом варианте осуществления данного изобретения, буфер для разведения добавляют в соотношении от 1:1 (буфер для разведения:состав) до 200:1 (буфер для разведения:состав). В другом варианте осуществления данного изобретения, буфер для разведения добавляют в соотношении от 1:1 (буфер для разведения:состав) до 100:1 (буфер для разведения:состав). В другом варианте осуществления данного изобретения, буфер для разведения добавляют в соотношении от 1:1 (буфер для разведения:состав) до 50:1 (буфер для разведения:состав).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав, содержащий анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент разводят от 1-кратного до 1000-кратного, от 1-кратного до 500-кратного, от 1-кратного до 250-кратного, от 1-кратного до 200-кратного, от 1-кратного до 100-кратного, от 1-кратного кратно до 50-кратного, от 1-кратного до 10-кратного, от 10-кратного до 1000-кратного, от 10-кратного до 500-кратного, от 10-кратного до 250-кратного, от 10-кратного до 200-кратного, от 10-кратного до 100-кратного, от 10-кратного до 50-кратного, от 50-кратного до 1000-кратного, от 50-кратного до 500-кратного, от 50-кратного до 250-кратного, от 50-кратного до 200-кратного, от 50-кратного до 100-кратного, от 100-кратного до 1000-кратного, от 100-кратного до 500-кратного, от 100-кратного до 250-кратного, от 100-кратного до 200-кратного, от 200-кратного до 1000-кратного, от 200-кратного до 500-кратного или от 200-кратного до 250-кратного разведения.

Анализы стабильности

Как обсуждается в данном документе, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, анти-PVRIG антитела, включая антитела с CDR, идентичными показанным на фиг. 3), проявляют улучшенную стабильность по сравнению с контрольными составами. В одном варианте осуществления данного изобретения, улучшенная стабильность включает сохранение более высокого процента активности связывания и/или отсутствие снижения активности связывания по сравнению с контрольными составами в различных анализах стабильности. Такие анализы можно применять для определения того, является ли состав высокостабилизированным составом. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, высокостабилизированный состав содержит по меньшей мере 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более активности, чем у контрольного состава, при оценке с помощью любого из анализов стабильности, обсуждаемых в данном документе или известных в данной области

техники.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент тестируются в стрессовых условиях, таких как хранение при высокой температуре, перемешивание, циклы замораживания/оттаивания или их комбинации. После таких стрессоров составы анализируют с применением любого из способов, описанных в данном документе или известных в данной области техники, для определения стабильности в этих условиях.

A280 и анализ внешнего вида

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анализ A280 с помощью SoloVPE можно применять для изучения внешнего вида стабильных жидких фармацевтических составов, содержащих анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анализ SoloVPE можно применять для изучения концентраций стабильных жидких фармацевтических составов, содержащих анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

A280: Аминокислоты, содержащие ароматические боковые цепи, демонстрируют сильное поглощение УФ-излучения при длине волны 280 нм. Как только коэффициент абсорбции для данного белка установлен, концентрация белка в растворе может быть рассчитана по его абсорбции. Метод предназначен для определения концентрации белка путем измерения его оптической плотности при 280 нм с помощью прибора SoloVPE без разбавления (<https://www.technologiesinc.com/products/solovpe>).

Внешний вид: определение внешнего вида образца оценивается путем помещения образца в контролируемый источник света и наблюдения за внешним видом материала. Аккуратно встряхивали раствор и определяли, изменится ли внешний вид при просмотре на черно-белом фоне. Используются такие прилагательные, как «прозрачный», «мутный» или «слегка мутный», чтобы оценить прозрачность. Будьте точны в отношении цвета материала. Если материал бесцветный, это указывается в результате (т.е. прозрачный, бесцветный раствор). указывается физическое состояние образца (т.е. жидкость или замороженная жидкость)

Анализ связывания

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, можно проводить анализ связывания для изучения активности стабильных жидких фармацевтических составов, содержащих анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

Анализ LabChip

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анализ LabChip применяется для проверки чистоты, включая, например, чистоту IgG, а также процентное содержание HC + LC для стабильных жидких фармацевтических составов, содержащих анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрируют процент чистоты IgG более чем 94%, более чем 95%, более чем 96%, более чем 97% или более чем 98%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент проявляют проценты чистоты IgG от около 95% до 98%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрируют процент чистоты IgG от около 96% до 97%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрируют процентное содержание HC+LC от около 96% до 100%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрируют процентное содержание HC+LC от около 97% до 100%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрируют процентное содержание HC+LC от около 98% до 100%.

Анализ cIEF

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, капиллярное изоэлектрическое фокусирование может применяться для анализа стабильных жидких фармацевтических составов, содержащих анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент для на наличие дополнительных видов, включая, например, минорные кислотные виды.

Анализ MFI

Антитела могут образовывать невидимые частицы в ответ на стрессовые условия, такие как тепло, циклы замораживания/оттаивания и перемешивание. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анализ изображений микропотоков (MFI - microflow imaging) может применяться для анализа стабильных жидких фармацевтических составов, содержащих анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент для

образования частиц в ответ на стрессовые состояния. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента представлены для состава, способного стабилизировать анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент при этих стрессовых условиях и защиты от образования частиц. MFI можно использовать для оценки количества частиц в различных диапазонах размеров (< 2 мкм, < 5 мкм, < 10 мкм и < 25 мкм) в различных составах в условиях стресса. Как правило, данные MFI могут быть оценены для выбора подходящего состава на основе образования наименьшего количества частиц/мл для всех размеров частиц во всех временных точках, условиях и составах.

Анализ SEC

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, эксклюзионная хроматография (SEC - size exclusion chromatography) может применяться для анализа стабильных жидких фармацевтических составов, содержащих анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Данные SEC показали HMW во всех временных точках и условиях; однако он оставался стабильным на уровне около 1%. LMW присутствовал в условиях ускорения и при $2-8^{\circ}\text{C}$ в течение 8 недель. В условиях 40°C LMW увеличилась от около 1% до 3% с недели 1 по неделю 2.

Выбранные варианты составов

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела, содержащему:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) переменный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) переменный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 mM до 100 mM гистидина;

(c) от 30 mM до 100 mM NaCl;

(d) от 20 mM до 150 mM L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела, содержащему:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) переменный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) переменный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9).

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу, содержащему:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) переменный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) переменный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,
при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу, содержащему:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) переменный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) переменный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к

стабильному жидкому фармацевтическому составу, содержащему:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелая цепь, содержащая:

a) VH-CH1-шарнир-CH2-CH3, где VH происходит из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где участок CH1-шарнир-CH2-CH3 происходит из IgG4; и

ii) легкая цепь, содержащая:

a) VL-CL, где VL из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок происходит из легкой цепи каппа-2 человека;

(b) от 10 mM до 100 mM гистидина;

(c) от 30 mM до 100 mM NaCl;

(d) от 20 mM до 150 mM L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу, содержащему:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелая цепь, содержащая:

a) VH-CH1-шарнир-CH2-CH3, где VH происходит из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где участок CH1-шарнир-CH2-CH3 происходит из IgG4; и

ii) легкая цепь, содержащая:

a) VL-CL, где VL из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок происходит из легкой цепи каппа-2 человека;

(b) около 25 mM гистидина;

(c) около 60 mM NaCl;

(d) около 100 mM L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу, содержащему:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелая цепь, содержащая тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкая цепь, содержащая легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) от 10 mM до 100 mM гистидина;

- (с) от 30 mM до 100 mM NaCl;
- (d) от 20 mM до 150 mM L-аргинина; и
- (е) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,
при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу, содержащему:

- (a) анти-PVRIG антитело, содержащее:
 - i) тяжелая цепь, содержащая тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и
 - ii) легкая цепь, содержащая легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);
- (b) около 25 mM гистидина;
- (с) около 60 mM NaCl;
- (d) около 100 mM L-аргинина; и
- (е) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

Введение составов анти-PVRIG антител

Введение фармацевтической композиции, содержащей анти-PVRIG антитела по данному изобретению (например, анти-PVRIG антитела, включая антитела с CDR, идентичными CDR, показанным на фиг. 3), предпочтительно в форме стерильного водного раствора, может осуществляться различными способами, как известно в данной области техники, белковые терапевтические средства часто доставляют путем в/в инфузии. Антитела по данному изобретению также могут быть доставлены с использованием таких способов. Например, венозное введение может осуществляться путем внутривенной инфузии 0,9% хлорида натрия в качестве инфузионного носителя. Такие методики описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed., 1980.

Количества доз и частоты введения в предпочтительных вариантах осуществления данного изобретения выбирают так, чтобы они были терапевтически или профилактически эффективными. Как известно в данной области техники, может понадобится поправка на деградацию белка, системную и локальную доставку и скорость синтеза новой протеазы, а также возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, рацион, время введения, взаимодействие с лекарственным средством и степень тяжести патологии, при этом специалисты в данной области техники могут определить вышеуказанную коррекцию с помощью обычных экспериментов. Для лечения пациента

может быть введена терапевтически эффективная доза варианта Fc согласно данному изобретению. Под термином «терапевтически эффективная доза» в данном документе подразумевается доза, которая вызывает эффекты, с целью которых она вводится.

Дозирование

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части по данному изобретению могут быть приготовлены для введения, в том числе в виде состава стандартной дозировки. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,01 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,02 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,03 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,04 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,05 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,06 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,07 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,08 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,09 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,1 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,2 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения,

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе от около 0,01 мг/кг до около 20 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе от около 0,01 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе около 20 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе около 20 мг/кг каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе около 20 мг/кг в/в каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 0,1 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 1 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 2 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 3 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 4 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 7 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 8 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 9 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, препарат вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг анти-PVRIG антитела.

Выбранное дозирование с вариантами осуществления данного состава

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к введению стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильная жидкая композиция анти-PVRIG

антитела содержит:

(а) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) переменный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) переменный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к введению стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильная жидкая композиция анти-PVRIG антитела содержит:

(а) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) переменный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) переменный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9).

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к введению стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильная жидкая композиция анти-PVRIG антитела содержит:

(а) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) переменный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) переменный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ

ID NO: 9);

- (b) от 10 mM до 100 mM гистидина;
 - (c) от 30 mM до 100 mM NaCl;
 - (d) от 20 mM до 150 mM L-аргинина; и
 - (e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к введению стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильная жидкая композиция анти-PVRIG антитела содержит:

- (a) анти-PVRIG антитело, содержащее:
 - i) переменный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и
 - ii) переменный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

- (b) около 25 mM гистидина;
 - (c) около 60 mM NaCl;
 - (d) около 100 mM L-аргинина; и
 - (e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к введению стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильная жидкая композиция анти-PVRIG антитела содержит:

- (a) анти-PVRIG антитело, содержащее:
 - i) тяжелая цепь, содержащая:
 - a) VH-CH1-шарнир-CH2-CH3, где VH происходит из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где участок CH1-шарнир-CH2-CH3 происходит из IgG4; и
 - ii) легкая цепь, содержащая:
 - a) VL-CL, где VL из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок происходит из легкой цепи каппа-2 человека;
- (b) от 10 mM до 100 mM гистидина;
- (c) от 30 mM до 100 mM NaCl;

- (d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и
 - (е) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет рН от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к введению стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильная жидкая композиция анти-PVRIG антитела содержит:

- (а) анти-PVRIG антитело, содержащее:
 - i) тяжелая цепь, содержащая:
 - а) VH-CH1-шарнир-CH2-CH3, где VH происходит из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где участок CH1-шарнир-CH2-CH3 происходит из IgG4; и
 - ii) легкая цепь, содержащая:
 - а) VL-CL, где VL из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок происходит из легкой цепи каппа-2 человека;
 - (b) около 25 мМ гистидина;
 - (c) около 60 мМ NaCl;
 - (d) около 100 мМ L-аргинина; и
 - (е) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет рН от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к введению стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильная жидкая композиция анти-PVRIG антитела содержит:

- (а) анти-PVRIG антитело, содержащее:
 - i) тяжелая цепь, содержащая тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и
 - ii) легкая цепь, содержащая легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);
 - (b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;
 - (c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;
 - (d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и
 - (е) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет рН от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к введению стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильная жидкая композиция анти-PVRIG антитела содержит:

- (a) анти-PVRIG антитело, содержащее:
 - i) тяжелая цепь, содержащая тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и
 - ii) легкая цепь, содержащая легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);
 - (b) около 25 mM гистидина;
 - (c) около 60 mM NaCl;
 - (d) около 100 mM L-аргинина; и
 - (e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, состав вводят с анти-PD-1 антителом.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, анти-PD-1 антитело представляет собой антитело, выбранное из группы, состоящей из пембролизумаба и ниволумаба.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб. В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, анти-PD-1 антитело, представляющее собой ниволумаб, вводят в дозе около 360 мг или 480 мг. В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, анти-PD-1 антитело, представляющее собой ниволумаб, вводят в дозе около 360 мг. В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, анти-PD-1 антитело, представляющее собой ниволумаб, вводят в дозе около 480 мг.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, анти-PD-1 антитело представляет собой пембролизумаб.

Способы применения составов анти-PVRIG антитела

Терапевтическое применение

Анти-PVRIG антитела (например, анти-PVRIG антитела, в том числе с CDR, идентичными показанным на фиг. 3) находят применение при лечении пациентов, таких как субъекты-люди, как правило, с состоянием, связанным с PVRIG. Используемый в

данном документе термин «лечение» относится как к терапевтическому лечению, так и к профилактическим или превентивным мерам, которые в данном примере относятся к лечению рака; однако также, как описано ниже, применение антител и фармацевтических композиций также предусмотрено для лечения инфекционных заболеваний, сепсиса и/или аутоиммунных состояний и/или для ингибирования нежелательной иммунной активации, которая следует за генной терапией. В число нуждающихся в лечении входят те, кто уже болен раком, а также те, у кого рак необходимо предотвратить. Следовательно, у млекопитающего, подлежащего лечению в данном документе, может быть диагностирован рак, или он может быть предрасположен или восприимчив к раку. Используемый в данном документе термин «лечение» относится к предотвращению, отсрочке начала, излечению, обращению, ослаблению, облегчению, минимизации, подавлению, прекращению вредных эффектов или стабилизации заметных симптомов вышеописанных раковых заболеваний, нарушений или состояний. Это также включает лечение рака, как описано выше. Под «лечением» подразумевается снижение тяжести заболевания, уменьшение частоты эпизодов заболевания, уменьшение продолжительности таких эпизодов, уменьшение тяжести таких эпизодов, замедление/уменьшение роста или пролиферации раковых клеток, замедление прогрессирования по меньшей мере одного симптома, улучшение по меньшей мере одного измеримого физического параметра и т.п. Например, иммуностимулирующие иммунные молекулы анти-PVRIG должны стимулировать Т-клеточный или НК-клеточный или цитокиновый иммунитет против клеток-мишеней, например, раковых, инфицированных или патогенных клеток, и тем самым лечить раковые или инфекционные заболевания путем истощения клеток, вовлеченных в патологическое состояние. И наоборот, иммуноингибиторные иммунные молекулы анти-PVRIG должны снижать активность Т-клеток или НК-клеток и/или секрецию провоспалительных цитокинов, которые участвуют в патологии некоторых иммунных заболеваний, таких как аутоиммунные, воспалительные или аллергические состояния и, таким образом, лечат или улучшают патологию заболевания и разрушение тканей, которые могут быть связаны с такими состояниями (например, разрушение суставов, связанное с состояниями ревматоидного артрита).

Антитела PVRIG по данному изобретению представлены в терапевтически эффективных дозах. «Терапевтически эффективная доза» иммунной молекулы анти-PVRIG в соответствии с по меньшей мере некоторыми вариантами осуществления данного изобретения предпочтительно приводит к уменьшению тяжести симптомов заболевания, увеличению частоты и продолжительности бессимптомных периодов заболевания, увеличению продолжительности жизни, ремиссии заболевания или

предотвращении или уменьшении ухудшения или инвалидности из-за болезни. Например, для лечения PVRIG-положительных опухолей «терапевтически эффективная доза» предпочтительно ингибирует рост клеток или рост опухоли по меньшей мере на около 20%, более предпочтительно по меньшей мере на около 40%, еще более предпочтительно по меньшей мере на около 60%, и еще более предпочтительно по меньшей мере на около 80% по сравнению с субъектами без лечения. Способность соединения ингибировать рост опухоли можно оценить в системе моделей животных для прогнозирования эффективности при опухолях человека. В качестве альтернативы, это свойство композиции может быть оценено путем исследования способности соединения ингибировать, такое ингибирование с помощью анализов *in vitro*, известных специалисту в данной области техники. Терапевтически эффективное количество терапевтического соединения может приводить к уменьшению размера опухоли или иным образом ослаблять симптомы у субъекта.

Рядовой специалист в данной области техники сможет определить такие количества на основе таких факторов, как размер субъекта, тяжесть симптомов субъекта и конкретная композиция или выбранный способ введения.

Лечение рака

Составы анти-PVRIG антител по данному изобретению находят особое применение при лечении рака. В общем, антитела по данному изобретению являются иммуномодулирующими в том смысле, что вместо того, чтобы непосредственно атаковать раковые клетки, анти-PVRIG антитела по данному изобретению стимулируют иммунную систему, как правило, путем ингибирования действия PVRIG. Таким образом, в отличие от терапии, направленной на опухоль, которая основана на ингибировании молекулярных путей, имеющих решающее значение для роста и развития опухоли, и/или деплетирование опухолевых клеток, иммунотерапия рака направлена на стимулирование собственной иммунной системы пациента для устранения раковых клеток, обеспечивая продолжительное разрушение опухоли. Для иммунотерапии рака можно применять различные подходы, среди которых терапевтические противораковые вакцины для индукции опухолеспецифических Т-клеточных ответов и иммуностимулирующие антитела (то есть антагонисты ингибирующих рецепторов = иммунных контрольных точек) для удаления иммуносупрессивных путей.

Клинические ответы при направленной терапии или традиционной противораковой терапии имеют тенденцию быть кратковременными, поскольку у раковых клеток развивается резистентность, и возникает рецидив опухоли. Тем не менее, клиническое применение противораковой иммунотерапии в последние несколько лет показало, что

этот способ терапии может характеризоваться длительными клиническими ответами, что оказывает существенное влияние на долгосрочную выживаемость. Однако, хотя ответы носят долгосрочный характер, на иммунотерапию отвечает только небольшое количество пациентов (в отличие от обычной или целевой терапии, когда большое количество пациентов имеет ответы, но ответы являются неустойчивыми).

К тому времени, когда опухоль обнаруживается клинически, она уже обошла иммунную систему защиты, получая иммунорезистентные и иммуносупрессивные свойства и создавая микросреду иммуносупрессивной опухоли посредством различных механизмов и множества иммунных клеток.

Соответственно, анти-PVRIG антитела согласно данному изобретению являются полезными в лечение рака. Из-за природы иммуноонкологического механизма действия, PVRIG не обязательно должен сверхэкспрессироваться или коррелировать с конкретным типом рака; то есть цель состоит в том, чтобы анти-PVRIG антитела подавляли активацию Т-клеток и НК-клеток таким образом, чтобы рак подвергался атаке иммунной системы.

В контексте данного документа, термин «рак» в широком смысле относится к любому опухолевому заболеванию (инвазивному или метастатическому), характеризующемуся аномальным и неконтролируемым делением клеток, вызывающим злокачественный рост или развитие опухоли (например, нерегулируемый рост клеток). Термин «рак» или «раковый», в контексте данного документа, следует понимать как охватывающий любое опухолевое заболевание (будь то инвазивное, неинвазивное или метастатическое), которое характеризуется аномальным и неконтролируемым делением клеток, вызывающим злокачественный рост или развитие опухоли, неограничивающие примеры которых описаны в данном документе. Этот термин включает в себя любое физиологическое состояние у млекопитающих, которое обычно характеризуется нерегулируемым ростом клеток.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG по данному изобретению можно применять для лечения солидных опухолей (включая, например, рак легкого, печени, молочной железы, головного мозга, желудочно-кишечного тракта) и рака крови (включая, например, лейкемию и предлейкемические расстройства, лимфому, нарушения плазматических клеток) карциномы, лимфомы, бластомы, саркомы и лейкемии или лимфоидных злокачественных новообразований. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, рак представляет является ранним. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, рак представляет является поздним (в том числе метастатический). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, рак, поддающийся лечению по данному изобретению, включает рак, который экспрессирует

или не экспрессирует PVRIG, и, кроме того, включает неметастатический или неинвазивный, а также инвазивный или метастатический рак, включая рак, при котором PVRIG экспрессируется иммунными, стромальными, или больными клетками подавляет противоопухолевые ответы и антиинвазивные иммунные ответы. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG можно применять для лечения васкуляризированных опухолей. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, рак для лечения с применением составов анти-PVRIG по данному изобретению включает карциному, лимфому, саркому и/или лейкемию. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, рак для лечения с применением составов анти-PVRIG по данному изобретению включает меланому, немеланомный рак кожи (плоскоклеточный и базальноклеточный рак), мезотелиому, плоскоклеточный рак, рак легкого (включая мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, саркому мягких тканей, саркому Капоши, аденокарциному легкого, плоскоклеточный рак легкого, рак брюшины, рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак печени (включая НСС), рак желудка, рак желудка (включая рак желудочно-кишечного тракта), рак поджелудочной железы, глиобластому, рак шейки матки, рак яичников, уротелиальный рак, рак мочевого пузыря, гепатому, глиому, рак головного мозга (а также отек, например, связанный с опухолями головного мозга), рак молочной железы (включая, например, трижды негативный рак молочной железы), рак яичка, герминогенные опухоли яичка, рак толстой кишки, колоректальный рак (CRC), колоректальный рак MSS (MSS-CRC; включая рефрактерный колоректальный MSS; MSS = микросателлит стабильный статус), первичный рак брюшины, микросателлитный стабильный первичный рак брюшины, устойчивый к платине микросателлитный стабильный первичный рак брюшины, CRC (MSS неизвестен), рак прямой кишки, рак эндометрия (включая рак эндометрия), рак матки, рак слюнных желез, рак почки, почечно-клеточный рак (RCC), почечно-клеточный рак (RCC), рак предстательной железы, рак вульвы, рак щитовидной железы, карцинома печени, карциноидную карциному, рак головы и шеи, В-клеточную лимфому (включая неходжкинскую лимфому, а также низкодифференцированную/фолликулярную неходжкинскую лимфому (NHL - non-Hodgkin's lymphoma), малую лимфоцитарную (SL) NHL, промежуточную/фолликулярную NHL, диффузную NHL средней степени, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, иммунобластную NHL высокой степени, лимфобластную NHL высокой степени, мелкоклеточную NHL с нерасщепленными клетками высокой степени, объемную болезнь NHL, лимфому из мантийных клеток, лимфому, связанную со СПИДом, и макроглобулинемию Вальденстрема), лимфому Ходжкина (HD - Hodgkin's lymphoma), хронический

лимфолейкоз (CLL - chronic lymphocytic leukemia), острый лимфобластный лейкоз (ALL - acute lymphoblastic leukemia), Т-клеточный острый лимфобластный лейкоз (T-ALL), острый миелоидный лейкоз (AML - Acute myeloid leukemia), лейкоз ворсистых клеток, хронический миелобластный лейкоз, множественную миелому, посттрансплантационное лимфопролиферативное заболевание (PTLD - post-transplant lymphoproliferative disorder), аномальную пролиферацию сосудов, связанную с факоматозами, синдром Мейгса, рак клеток Меркеля, MSI-высокий рак, мутантные опухоли KRAS, Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых, адено-кистозный рак (включая адено-кистозную карциному), злокачественную меланому, рак поджелудочной железы, аденокарциному поджелудочной железы, рак яичников (включая карциному яичников), мезотелиому плевры, нейроэндокринный рак легких (включая мезотелиому плевры, нейроэндокринную карциному легких), NSCL (крупноклеточный), крупноклеточную аденокарциному NSCLC, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), плоскоклеточный NSCLC, плоскоклеточный рак шейки матки (SCC шейки матки), плоскоклеточный анальный рак (анальный SCC), нейроэндокринную карциному легких, карциному неизвестной первичной формы, рак желчного пузыря, злокачественную меланому, мезотелиому плевры и/или миелодиспластический синдром (MDS - Myelodysplastic syndromes).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, рак для лечения с применением составов анти-PVRIG по данному изобретению включает рак, выбранный из группы, состоящей из рака предстательной железы, рака печени (HCC), колоректального рака (CRC - colorectal cancer), колоректального рака MSS (MSS-CRC; включая рефрактерный колоректальный MSS), CRC (MSS неизвестный), рака яичников (включая рак яичников), рака эндометрия (включая рак эндометрия), рака молочной железы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака щитовидной железы, рака яичек, рака уротелия, рака легких, меланомы, немеланомного рака кожи (плоскоклеточный и базально-клеточный рак), глиомы, почечно-клеточный рака (RCC - renal cell cancer), почечно-клеточный рака (RCC), лимфомы (неходжкинская лимфома (NHL - non-Hodgkins' lymphoma) и лимфомы Ходжкина (HD - Hodgkin's lymphoma)), острого миелоидного лейкоза (AML - Acute myeloid leukemia), Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза (T-ALL), диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, опухоли зародышевых клеток яичка, мезотелиомы, рака пищевода, тройного негативного рака молочной железы, рака из клеток Меркеля, MSI-высокого рака, мутантных опухолей KRAS, Т-клеточного лейкоза/лимфомы взрослых, мезотелиомы плевры, анального SCC, нейроэндокринного рака легкого (включая нейроэндокринную карциному легкого), NSCLC, NSCL (крупноклеточный), крупноклеточного NSCLC,

плоскоклеточного NSCLC, SCC шейки матки, злокачественной меланомы, рака поджелудочной железы, аденокарциномы поджелудочной железы, NSCLC, аденокистозного рака (включая адено-кистозную карциному), первичного рака брюшины, стабильного микросателлитного первичного рака брюшины, резистентного к платине микросателлитного стабильного первичного рака брюшины и/или миелодиспластических синдромов (MDS - Myelodysplastic syndrome).

Термин «терапия рака» в контексте данного документа относится к любому способу, с помощью которого предотвращают или лечат рак или ослабляет один или большее количество симптомов рака. Как правило, такие способы лечения включают введение иммуностимулирующих анти-PVRIG антител (включая антигенсвязывающие фрагменты) либо отдельно, либо в сочетании с химиотерапией или лучевой терапией или другими биологическими средствами и для усиления их активности, то есть у индивидуумов, у которых экспрессия PVRIG подавляет противоопухолевые реакции и эффективность химиотерапии или лучевой терапии, или биологическую эффективность.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, антитела анти-PVRIG применяются в комбинации с антагонистическими антителами, нацеленными на PD-1 (например, анти-PD-1 антителами), включая, например, но не ограничиваясь ими, ниволумаб и/или пембролизумаб. В некоторых вариантах осуществления, антитело анти-PD-1 представляет собой антитело, выбранное из группы, состоящей из ниволумаба и пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело представляет собой пембролизумаб. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб вводимый в дозе 360 мг. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб вводят в дозе 360 мг в/в. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб, который вводят в дозе 360 мг в/в в течение 3 недель (например, 360 мг в/в Q-3 недели). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб вводимый в дозе 480 мг. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб вводят в дозе 480 мг в/в. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб, который вводят в дозе 480 мг в/в в течение 3 недель (например, 480 мг в/в Q-3 недели). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело ниволумаб вводят в дозе 360 мг, и анти-PVRIG вводят в дозе 20 мг/кг. В некоторых вариантах

осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело ниволумаб вводят в дозе 360 мг в/в, и анти-PVRIG вводят в дозе 20 мг/кг в/в. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело ниволумаб вводят в дозе 480 мг, и анти-PVRIG вводят в дозе 20 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело ниволумаб вводят в дозе 480 мг в/в, и анти-PVRIG вводят в дозе 20 мг/кг в/в. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело ниволумаб вводят в дозе 360 мг в/в в течение 3 недель (например, 360 мг в/в Q-3 недели), и анти-PVRIG вводят в дозе 20 мг/кг в/в в течение 3 недель. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело ниволумаб вводят в дозе 480 мг в/в в течение 3 недель (например, 480 мг в/в Q-3 недели), и анти-PVRIG вводят в дозе 20 мг/кг в течение 3 недель. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело ниволумаб вводят в дозе 360 мг в/в в течение 4 недель (например, 360 мг в/в Q-4 недели), и анти-PVRIG вводят в дозе 20 мг/кг в/в в течение 4 недель. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело ниволумаб вводят в дозе 480 мг в/в в течение 4 недель (например, 480 мг в/в Q-4 недели), и анти-PVRIG вводят в дозе 20 мг/кг в течение 4 недель. В некоторых вариантах осуществления анти-PVRIG представляет собой CHA.7.518.1.H4(S241P). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, субъект, которому вводили анти-PVRIG антитело в комбинации с анти-PD-1 антителом, исчерпал всю доступную стандартную терапию, включая, например, но не ограничиваясь этим, ECOG 0-1, предшествующее анти-PD-1 антитело, предшествующее анти-PD-L1, предшествующие анти-CTLA-4, предшествующие OX-40 и/или предшествующие CD137 терапии.

Выбранная монотерапевтическая терапия вариантами осуществления данного состава

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) переменный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) переменный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 mM до 100 mM гистидина;

- (с) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;
 - (d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и
 - (е) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

- (а) анти-PVRIG антитело, содержащее:
 - i) переменный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и
 - ii) переменный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9).

- (а) анти-PVRIG антитело;
 - (b) около 25 мМ гистидина;
 - (с) около 60 мМ NaCl;
 - (d) около 100 мМ L-аргинина; и
 - (е) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

- (а) анти-PVRIG антитело, содержащее:
 - i) переменный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и
 - ii) переменный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);
 - (b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;
 - (с) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;
 - (d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и
 - (е) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) переменный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) переменный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) около 25 mM гистидина;

(c) около 60 mM NaCl;

(d) около 100 mM L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелая цепь, содержащая:

a) VH-CH1-шарнир-CH2-CH3, где VH происходит из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где участок CH1-шарнир-CH2-CH3 происходит из IgG4; и

ii) легкая цепь, содержащая:

a) VL-CL, где VL из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок происходит из легкой цепи каппа-2 человека;

(b) от 10 mM до 100 mM гистидина;

(c) от 30 mM до 100 mM NaCl;

(d) от 20 mM до 150 mM L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,
при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят

в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелая цепь, содержащая:

a) VH-CH1-шарнир-CH2-CH3, где VH происходит из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где участок CH1-шарнир-CH2-CH3 происходит из IgG4; и

ii) легкая цепь, содержащая:

a) VL-CL, где VL из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок происходит из легкой цепи каппа-2 человека;

(b) около 25 mM гистидина;

(c) около 60 mM NaCl;

(d) около 100 mM L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелая цепь, содержащая тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкая цепь, содержащая легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) от 10 mM до 100 mM гистидина;

(c) от 30 mM до 100 mM NaCl;

(d) от 20 mM до 150 mM L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

- i) тяжелая цепь, содержащая тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и
- ii) легкая цепь, содержащая легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

- (b) около 25 mM гистидина;
 - (c) около 60 mM NaCl;
 - (d) около 100 mM L-аргинина; и
 - (e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

Выбранное комбинированное лечение с вариантами осуществления данного состава

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

- (a) анти-PVRIG антитело, содержащее:
 - i) переменный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и
 - ii) переменный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);
 - (b) от 10 mM до 100 mM гистидина;
 - (c) от 30 mM до 100 mM NaCl;
 - (d) от 20 mM до 150 mM L-аргинина; и
 - (e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

- (a) анти-PVRIG антитело, содержащее:
 - i) переменный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и
 - ii) переменный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из

легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9).

- (a) анти-PVRIG антитело;
 - (b) около 25 mM гистидина;
 - (c) около 60 mM NaCl;
 - (d) около 100 mM L-аргинина; и
 - (e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

- (a) анти-PVRIG антитело, содержащее:
 - i) переменный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и
 - ii) переменный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);
 - (b) от 10 mM до 100 mM гистидина;
 - (c) от 30 mM до 100 mM NaCl;
 - (d) от 20 mM до 150 mM L-аргинина; и
 - (e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

- (a) анти-PVRIG антитело, содержащее:
 - i) переменный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и
 - ii) переменный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);
- (b) около 25 mM гистидина;
- (c) около 60 mM NaCl;
- (d) около 100 mM L-аргинина; и

- (е) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

- (а) анти-PVRIG антитело, содержащее:

- i) тяжелая цепь, содержащая:

- а) VH-CH1-шарнир-CH2-CH3, где VH происходит из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где участок CH1-шарнир-CH2-CH3 происходит из IgG4; и

- ii) легкая цепь, содержащая:

- а) VL-CL, где VL из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок происходит из легкой цепи каппа-2 человека;

- (b) от 10 mM до 100 mM гистидина;

- (с) от 30 mM до 100 mM NaCl;

- (d) от 20 mM до 150 mM L-аргинина; и

- (е) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,
при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

- (а) анти-PVRIG антитело, содержащее:

- i) тяжелая цепь, содержащая:

- а) VH-CH1-шарнир-CH2-CH3, где VH происходит из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где участок CH1-шарнир-CH2-CH3 происходит из IgG4; и

- ii) легкая цепь, содержащая:

- а) VL-CL, где VL из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок происходит из легкой цепи каппа-2 человека;

- (b) около 25 mM гистидина;

- (с) около 60 mM NaCl;

- (d) около 100 mM L-аргинина; и

- (е) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелая цепь, содержащая тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкая цепь, содержащая легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) от 10 mM до 100 mM гистидина;

(c) от 30 mM до 100 mM NaCl;

(d) от 20 mM до 150 mM L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелая цепь, содержащая тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкая цепь, содержащая легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) около 25 mM гистидина;

(c) около 60 mM NaCl;

(d) около 100 mM L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 360 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10

мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) переменный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) переменный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 360 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) переменный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) переменный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9).

(a) анти-PVRIG антитело;

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 360 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) переменный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) переменный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

- (b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;
 - (c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;
 - (d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и
 - (e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 360 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) переменный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) переменный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

- (b) около 25 мМ гистидина;
 - (c) около 60 мМ NaCl;
 - (d) около 100 мМ L-аргинина; и
 - (e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 360 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелая цепь, содержащая:

a) VH-CH1-шарнир-CH2-CH3, где VH происходит из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где участок CH1-шарнир-CH2-CH3 происходит из IgG4; и

ii) легкая цепь, содержащая:

a) VL-CL, где VL из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок происходит из легкой цепи каппа-2 человека;

- (b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

- (с) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;
- (d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и
- (е) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,
при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 360 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

- (а) анти-PVRIG антитело, содержащее:
 - i) тяжелая цепь, содержащая:
 - а) VH-CH1-шарнир-CH2-CH3, где VH происходит из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где участок CH1-шарнир-CH2-CH3 происходит из IgG4; и
 - ii) легкая цепь, содержащая:
 - а) VL-CL, где VL из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок происходит из легкой цепи каппа-2 человека;
- (b) около 25 мМ гистидина;
- (с) около 60 мМ NaCl;
- (d) около 100 мМ L-аргинина; и
- (е) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 360 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

- (а) анти-PVRIG антитело, содержащее:
 - i) тяжелая цепь, содержащая тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и
 - ii) легкая цепь, содержащая легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);
- (b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;
- (с) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;
- (d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и
- (е) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 360 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелая цепь, содержащая тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкая цепь, содержащая легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) около 25 mM гистидина;

(c) около 60 mM NaCl;

(d) около 100 mM L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 480 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) переменный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) переменный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 mM до 100 mM гистидина;

(c) от 30 mM до 100 mM NaCl;

(d) от 20 mM до 150 mM L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 480 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10

мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(а) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) переменный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) переменный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9).

(а) анти-PVRIG антитело;

(b) около 25 мМ гистидина;

(с) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(е) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 480 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(а) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) переменный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) переменный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(с) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(е) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 480 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(а) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) переменный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) переменный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

- (b) около 25 мМ гистидина;
 - (c) около 60 мМ NaCl;
 - (d) около 100 мМ L-аргинина; и
 - (e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 480 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелая цепь, содержащая:

a) VH-CH1-шарнир-CH2-CH3, где VH происходит из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где участок CH1-шарнир-CH2-CH3 происходит из IgG4; и

ii) легкая цепь, содержащая:

a) VL-CL, где VL из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок происходит из легкой цепи каппа-2 человека;

- (b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;
 - (c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;
 - (d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и
 - (e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 480 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелая цепь, содержащая:

a) VH-CH1-шарнир-CH2-CH3, где VH происходит из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где участок CH1-шарнир-CH2-CH3 происходит из IgG4; и

ii) легкая цепь, содержащая:

a) VL-CL, где VL из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок

происходит из легкой цепи каппа-2 человека;

- (b) около 25 мМ гистидина;
 - (c) около 60 мМ NaCl;
 - (d) около 100 мМ L-аргинина; и
 - (e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 480 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

- (a) анти-PVRIG антитело, содержащее:
 - i) тяжелая цепь, содержащая тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и
 - ii) легкая цепь, содержащая легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);
 - (b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;
 - (c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;
 - (d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и
 - (e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,
- при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 480 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

- (a) анти-PVRIG антитело, содержащее:
 - i) тяжелая цепь, содержащая тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и
 - ii) легкая цепь, содержащая легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);
- (b) около 25 мМ гистидина;
- (c) около 60 мМ NaCl;
- (d) около 100 мМ L-аргинина; и
- (e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

Примеры

Пример 1: Тестирование состава антитела PVRIg

Антитело PVRIg, которое было составлено в каждом буфере (А и В), добавляли соответствующие эксципиенты для создания 20 условий, перечисленных на фиг. 6. Каждый состав был обозначен идентификатором состава (ID).

Составленный материал подвергали стрессу и хранению в условиях, показанных на фиг. 7А-7В.

Процедурные этапы исследования состава

Требования к выборке

Для каждого условия требовалось в общей сложности два флакона для тестирования с одним дополнительным запасным флаконом. Один флакон требовался для LabChip (восстановленного и невосстановленного), cIEF, концентрации (A280nm), анализа эффективности и анализов SEC-HPLC в CPS. Другой флакон был необходим для анализа внешнего вида и MFI. Соответствующие образцы были удалены в указанные моменты времени и заморожены при $< -60^{\circ}\text{C}$ до начала анализа, за исключением образцов для MFI и проверки внешнего вида. Тестирование MFI и внешнего вида, которые были проведены сразу после извлечения.

Образцы нулевой временной точки (T0) из 20 составленных образцов были взяты из исходного запаса флаконов, хранящихся при $2-8^{\circ}\text{C}$, и заморожены при $< -60^{\circ}\text{C}$ до анализа (или анализировались немедленно в случае внешнего вида и тестирования MFI).

Изучение замораживания/оттаивания Хранение при температуре $< -60^{\circ}\text{C}$

Для каждого цикла три флакона на состав (всего 60 флаконов) помещали на хранение при $< -60^{\circ}\text{C}$. Минимум через 16 часов все три флакона на состав извлекали из условий хранения при температуре $< -60^{\circ}\text{C}$ (всего 60 флаконов) и оставляли нагреваться до комнатной температуры в течение 3–5 часов до оттаивания.

После помещения в морозильную камеру для цикла 3 три флакона не размораживали при комнатной температуре до тех пор, пока они не были готовы к началу тестирования. Затем образцы доводили до комнатной температуры перед анализом.

Образцы анализировали, как описано в этом примере.

Перемешивание

По три флакона от каждого из 20 составов (всего 60 флаконов) помещали и фиксировали на шейкере, вращающемся со скоростью ~ 200 об/мин при комнатной температуре. Флаконы встряхивали не менее 24 часов и не более 48 часов. Все флаконы хранились замороженными при $< -60^{\circ}\text{C}$ до анализа, за исключением MFI и проверки

внешнего вида, которые проводились немедленно. Перед анализом образцы уравнивали до комнатной температуры.

Образцы анализировали, как описано в этом примере.

Хранение при температуре 2–8°C в течение 8 недель (тестирование через 0, 2, 4 и 8 недель)

От каждого из 20 составов было взято по двенадцать флаконов (всего 240 флаконов, включая флаконы T0) и хранились при температуре 2–8°C. Два флакона в T0 были немедленно проанализированы на MFI и внешний вид. Все остальные образцы были помечены с указанием температуры и времени и хранились в замороженном виде при температуре < -60°C до проведения анализа. Перед анализом образцы доводили до комнатной температуры.

В каждый последующий момент времени из условия хранения при температуре 2–8°C брали по три флакона на состав, маркировали с указанием температуры и момента времени и хранили в замороженном виде при температуре < -60°C до проведения анализа, за исключением MFI и проверки внешнего вида, которые проводили немедленно. Перед анализом образцы доводили до комнатной температуры.

Образцы анализировали, как описано в этом примере.

Хранение при комнатной температуре (25°C) в течение 4 недель (тестирование через 2 и 4 недели)

От каждого из 20 составов брали по шесть флаконов (всего 120 флаконов) и хранили при температуре окружающей среды (25°C).

В каждый момент времени три флакона для каждого состава брали из хранилища при комнатной температуре, маркировали с указанием температуры и момента времени и замораживали при температуре < -60°C до анализа, за исключением MFI и проверки внешнего вида, которые проводились немедленно. Перед анализом образцы доводили до комнатной температуры.

Образцы анализировали, как описано в этом примере.

Хранение при температуре 40°C в течение 2 недель (тестирование через 1 и 2 недель)

От каждого из 20 составов брали по шесть флаконов (всего 120 флаконов) и хранили при 40°C.

В каждый момент времени из хранилища при 40°C брали по три флакона для каждого состава, маркировали с указанием температуры и момента времени и хранили в замороженном виде при < -60°C до проведения анализа, за исключением проверки внешнего вида MFI, которые проводились немедленно. Перед анализом образцы доводили

до комнатной температуры.

Образцы анализировали, как описано в этом примере.

План и расписание тестирования

Для каждого состояния состава брали образец и проводили испытание.

Результаты

Все данные для каждого состава и момента времени были предоставлены на протяжении всего исследования и представлены на фиг. 8-79). Результаты обсуждаются в этом примере. Каждый состав оценивали и сравнивали с изучаемыми условиями.

На фигурах графически представлены результаты критических анализов, которые были собраны и проанализированы. Важнейшими анализами, проанализированными для определения подходящего состава, были SEC, cIEF и MFI. Высокомолекулярные и низкомолекулярные виды SEC отслеживались на протяжении всего исследования (фиг. 11, 18, 25, 33, 40, 47, 54, 61, 68 и 75). Результаты cIEF были получены на протяжении всего исследования (фиг. 12, 19, 26, 34, 41, 48, 55, 62, 69 и 76). Наконец, отслеживали количество частиц MFI/мл различных размеров (фиг. 13, 20, 27, 35, 42, 49, 56, 63, 70 и 77).

Обсуждение

A280 и анализ внешнего вида

A280 от SoloVPE и тестирование внешнего вида не показали существенных изменений в моменте времени и составах и не применялись для определения окончательного состава.

Во время анализа способом замораживания/оттаивания SoloVPE показал различные концентрации во всех различных составах, выходящие за пределы спецификаций прибора. Извлекали запасные флаконы и повторили анализ. Однако анализ по-прежнему показывал разные результаты. Поэтому одни и те же образцы были повторены с поправкой на светорассеяние 320 нм. Результаты A280 показали гораздо меньшую изменчивость (фиг. 35). Данные замораживания/оттаивания показывают, что для этого продукта может потребоваться коррекция 320 нм после многократного замораживания/оттаивания. Другие условия не давали такой изменчивости. Поскольку этот продукт будет подвергаться длительному исследованию стабильности, потребуется, чтобы этот продукт использовал коррекцию 320 нм, когда SoloVPE используется для определения концентрации.

Анализ связывания

Была проведена оценка анализа связывания, однако анализ связывания не продемонстрировал значительных изменений активности в зависимости от условий или составов. Наблюдаемые изменения находились в пределах вариабельности метода.

Следовательно, этот метод показывает, что молекула стабильна с точки зрения активности связывания. Этот метод не был решающим при принятии решения о форме состава.

Анализ LabChip

Оценка данных LabChip показала, что чистота IgG и процентное содержание HC + LC были довольно стабильными во времени и условиях. Проценты чистоты IgG варьировались от 96 до 97%, а проценты HC+LC варьировались от 98 до 100%. Поскольку не было значительных изменений в результатах во времени, этот метод не использовался для определения состава.

Анализ cIEF

После получения результатов анализа cIEF при 40°C в течение 1 недели было обнаружено, что в составах A, B9 и B10 присутствовали дополнительные второстепенные кислотные виды. Это привело к удалению этих составов из рекомендаций на данном этапе исследования. Однако после этой временной точки все ускоренные условия и временная точка 4 недель при температуре 2–8°C и более показали присутствие этого второстепенного вида в различных количествах. Таким образом, при выборе подходящего состава контролировали стабильность второстепенных видов в ускоренных условиях.

Анализ MFI

Белок может образовывать невидимые частицы в ответ на стрессовые условия, такие как тепло, циклы замораживания/оттаивания и перемешивание. Оптимальный состав способен стабилизировать белок в этих стрессовых условиях и защитить от образования частиц. MFI использовали для оценки количества частиц в различных диапазонах размеров (< 2 мкм, < 5 мкм, < 10 мкм и < 25 мкм) в различных составах в стрессовых условиях. Данные MFI были оценены для выбора подходящего состава на основе образования наименьшего количества частиц/мл для всех размеров частиц во всех временных точках, условиях и составах.

Анализ SEC

Данные SEC показали HMW во всех временных точках и условиях; однако он оставался стабильным на уровне около 1%. LMW присутствовал в условиях ускорения и при 2–8°C в течение 8 недель. В условиях 40°C LMW увеличилась от около 1% до 3% с недели 1 по неделю 2. Этот вид будет отслеживаться на протяжении всей программы, а позже его необходимо будет идентифицировать с помощью дальнейшего анализа характеристик. При выборе подходящего состава, LMW и HMW оценивали на стабильность во временных точках и условиях.

Заключение

С помощью этих данных было определено, что буфер, обозначенный как B4 (25

мМ гистидина, 60 мМ NaCl, 100 мМ L-аргинина, 0,01% PS 80, pH 6,5), будет окончательным составом. Этот состав имел стабильные результаты SEC с низкими HMW и LMW. Кроме того, данные MFI показали меньшее количество частиц/мл для всех размеров частиц. Данные LabChip показали, что чистота IgG и процентное содержание HC + LC были стабильными в составе B4 по сравнению с T0. Поэтому токсикологическая партия была составлена в этом буфере.

Пример 2: Состав антитела PVRIG

Описание и состав раствора для инфузии

Состав предоставлен в виде стерильной жидкой лекарственной формы без консервантов в концентрации 20 мг/мл в 10R флаконе из прозрачного боросиликатного стекла типа I с серой бромбутил резиновой пробкой и алюминиевой откидной крышкой. Флаконы заполнены до целевого объема 10 мл. Препарат хранится и транспортируется в замороженном виде при температуре -20°C. Перед применением флаконы оттаивают при температуре окружающей среды, перемешивают легким встряхиванием. Для введения пациентам, состав разбавлен с 0,9% хлоридом натрия.

Система закрытия контейнеров

Для препарата существует единая система укупорки контейнера, состоящая из 10R флакона из прозрачного боросиликатного стекла типа I, 20 мм бромбутил резиновой пробки и 20 мм алюминиевой откидной крышкой.

Состав был произведен путем оттаивания и объединения лекарственного вещества с последующим добавлением 0,22 μ m стерильной фильтрации и розлива в стерильные 10R стеклянные флаконы у Веттера.

Компоненты лекарственной формы и количественный состав лекарственного препарата на номинальное количество во флаконе (10 мл) представлены в таблице 1 ниже (см. также B4 на фиг. 6-78).

Таблица 1: Состав

Компонент	Функция	Презентация 10R Стеклянного флакона	Номинальное количество [мг/флакон] V = 10,0 мл
СНА.7.518.1.H4(S241P) мАт	Активный ингредиент	20 мг/мл в форме жидкой дозировке	200
25 мМ гистидина	Компонент буфера - Стабилизация pH	25 мМ в жидком составе	39
60 мМ NaCl	Компонент буфера - Контроль ионной силы	60 мМ в жидком составе	35
100 мМ L-аргинина	Вспомогательное вещество состава -Стабилизатор	100 мМ в жидком составе	174
Полисорбат 80	Экспципиент состава поверх- ностно-активного вещества	0,01% мас./об. В жидком составе	1

Достаточный объем помещен во флаконы в зависимости от веса нетто, чтобы обеспечить извлекаемый объем 10 мл.

Пример 3: Фаза 1 исследования по оценке анти-PVRIG антитела у пациентов с запущенными солидными опухолями.

Область техники:

Существует большая неудовлетворенная медицинская потребность в лечении (tx - treatment) пациентов (pt - patient), у которых наблюдается резистентность или рецидив после лечения ингибиторами контрольных точек. Срочно необходимы новые методы воздействия на контрольные точки с новыми механизмами действия, которые могут активировать Т-клетки и демонстрировать противоопухолевую активность в этой популяции пациентов до лечения. CHA.7.518.1.H4(S241P) (тяжелая цепь: SEQ ID NO: 8; легкая цепь: SEQ ID NO: 13) представляет собой новое первое в своем классе гуманизированное моноклональное антитело IgG4, которое с высокой аффинностью связывается с PVRIG (содержащим домен иммуноглобулина, связанный с рецептором полиовируса), блокируя его взаимодействие с его лигандом, PVRL2. И PVRIG, и PVRL2 являются частью оси DNAM, как и TIGIT и PD1. Ингибирование PVRIG приводит к усиленной активации Т- и НК-клеток, а PVRIG приводит к ингибированию роста опухоли в моделях опухолей у мышей. Мы предполагаем, что CHA.7.518.1.H4(S241P) (тяжелая цепь: SEQ ID NO: 8; легкая цепь: SEQ ID NO: 13) будет демонстрировать противоопухолевую активность у пациентов, которым предварительно вводили ингибитор контрольной точки.

Методы:

В этом примере описывается продолжающееся открытое исследование фазы 1 на людях у пациентов с запущенными солидными опухолями. В начальной части этого исследования (группа А) будут оцениваться возрастающие дозы CHA.7.518.1.H4(S241P) (тяжелая цепь: SEQ ID NO: 8; легкая цепь: SEQ ID NO: 13) в/в монотерапия Q3 еженедельно с отдельными когортами схемы пациентов для начальной схемы 4, а затем 3+3. Ключевые критерии включения: возраст ≥ 18 лет, гистологически подтвержденная местно-распространенная/метастатическая солидная злокачественная опухоль, исчерпание доступной стандартной терапии, ECOG 0-1, предшествующие анти-PD-1, анти-PD-L1, анти-CTLA-4, OX-40, CD137 допустимо.

Ключевые критерии исключения: Активное аутоиммунное заболевание, требующее системной терапии в течение последних 2 лет, симптоматическое интерстициальное или воспалительное заболевание легких, непереносимость или симптоматическое метастазирование в центральную нервную систему. Основными целями являются

безопасность и переносимость CHA.7.518.1.H4(S241P) (тяжелая цепь: SEQ ID NO: 8; легкая цепь: SEQ ID NO: 13), измеренную по частоте побочных явлений (ПЯ) и ограничивающей дозу токсичности (21-дневное окно DLT), фармакокинетику CHA.7.518.1.H4(S241P) (тяжелая цепь: SEQ ID NO: 8; легкая цепь: SEQ ID NO: 13), а также для определения максимально переносимой дозы и/или рекомендуемой дозы для увеличения дозы. Вторичные цели заключаются в том, чтобы охарактеризовать иммуногенность и предварительную противоопухолевую активность CHA.7.518.1.H4(S241P) (тяжелая цепь: SEQ ID NO: 8; легкая цепь: SEQ ID NO: 13).

Статистические соображения: ПЯ оценивались согласно CTCAE v4.03, ответы согласно RECIST v1.1. Анализ всех целей исследования будет носить описательный характер и генерировать гипотезы. Не наблюдалось DLT в когортах с одним пациентом. Оценка пациентов, зачисленных в когарту 5, продолжается на момент подачи этой заявки.

Пример 4: Фаза 1 исследования по оценке монотерапии анти-PRIG и в комбинации с ниволумабом у пациентов с запущенными солидными опухолями

Область техники:

CHA.7.518.1.H4(S241P) является новым 1-м в своем классе ингибитором контрольной точки домена иммуноглобулина, связанного с рецептором полиовируса (PVRIG). Он ингибирует связывание PVRIG с его лигандом PVRL2. Ниволумаб, анти-PD-1, одобрен для пациентов с прогрессирующими злокачественными новообразованиями (Вкладыш в упаковку Ниволумаба. http://packageinserts.bms.com/pi/pi_opdivo.pdf. Получено 22.07.2019). Было продемонстрировано, что сигнальная ось DNAM, состоящая из PVRL2, TIGIT и DNAM, играет роль в регуляции активности Т/НК-клеток. Ингибиторы PD-1 также играют важную роль в этой оси, модулируя активацию DNAM. В доклинических экспериментах было продемонстрировано, что блокирование PVRIG отдельно и в сочетании с ингибированием PD-1 приводит к активации Т-клеток в микроокружении опухоли, тем самым вызывая противоопухолевый иммунный ответ и ингибирование роста опухоли. Существует большая неудовлетворенная медицинская потребность в новых ингибиторах иммунных контрольных точек (ICI - immune checkpoint inhibitor) в качестве монотерапии у пациентов с рецидивом после лечения одобренными ICI, а также в сочетании с одобренными ICI для усиления клинического ответа. Не будучи связанным теорией, предполагается, что CHA.7.518.1.H4(S241P) будет безопасным и переносимым и продемонстрирует предварительную противоопухолевую активность в качестве монотерапии и в комбинации с ниволумабом у пациентов с R/R солидными опухолями. Ранее сообщалось, что ни о каких DLT не сообщалось вплоть до уровня дозы 6 при монотерапии CHA.7.518.1.H4(S241P) (Исследование фазы I по оценке

CHA.7.518.1.H4(S241P) у пациентов с запущенными солидными опухолями. J Clin Oncol 37, 2019 (дополнение; абзац TPS2657)).

Методы:

Продолжающееся исследование с повышением дозы P1 с отдельными когортами пациентов и дизайном исследования 3+3 CHA.7.518.1.H4(S241P) в качестве в/в монотерапии каждые 3 недели и в комбинации с ниволумабом 360 мг в/в Q3 недели. Ключевые критерии включения: возраст ≥ 18 лет, гистологически подтвержденная прогрессирующая солидная опухоль и исчерпание всей доступной стандартной терапии, ECOG 0-1, предшествующие анти-PD-1, анти-PD-L1, анти-CTLA-4, OX-40, CD137 допустим. Ключевые критерии исключения: Активное аутоиммунное заболевание, требующее системной терапии в течение последних 2 лет, симптоматическое интерстициальное или воспалительное заболевание легких, непереносимость или симптоматическое метастазирование в ЦНС. Основные цели: безопасность и переносимость CHA.7.518.1.H4(S241P) монотерапии и в комбинации с ниволумабом, измеряемой по частоте ПЯ и DLT (21-дневное окно), фармакокинетика CHA.7.518.1.H4(S241P), а также определение максимально переносимой дозы и/или рекомендуемой дозы для увеличения в качестве монотерапии/в комбинации с ниволумабом. Второстепенные цели: охарактеризовать иммуногенность и предварительную противоопухолевую активность CHA.7.518.1.H4(S241P) в комбинации с ниволумабом. Статистические соображения: ПЯ согласно CTCAE v4.03, ответы согласно RECIST v1.1. Анализ целей исследования носит описательный характер и позволяет генерировать гипотезы.

Результаты:

На эту дату представления не наблюдались DLT вплоть до уровня дозы 7 CHA.7.518.1.H4(S241P) монотерапия и уровень дозы 1 CHA.7.518.1.H4(S241P) в комбинации с ниволумабом.

Заключение:

Оценка безопасности и переносимости продолжается для всех пациентов. Обновленные результаты будут анализироваться на протяжении всего клинического испытания.

Пример 5: Фаза 1 исследования безопасности, переносимости и предварительной противоопухолевой активности монотерапии CHA.7.518.1.H4(S241P) у пациентов с запущенными солидными опухолями

Область техники:

CHA.7.518.1.H4(S241P) является новым первым в своем классе ингибитором

иммунных контрольных точек (ICI) домена иммуноглобулина, связанного с рецептором полиовируса (PVRIG) [1]. Он ингибирует связывание PVRIG с его лигандом PVRL2. PVRIG является членом сигнальной оси DNAM/TIGIT, регулирующей активность Т/НК-клеток. В доклинических экспериментах мы показали, что ингибирование PVRIG отдельно и в сочетании с блокаторами анти-PD-1 и/или TIGIT приводит к активации Т-клеток в микроокружении опухоли, вызывая противоопухолевый иммунный ответ и ингибирование роста опухоли [1]. Хотя ICI произвели революцию в лечении рака, существует острая необходимость в разработке методов лечения пациентов с рефрактерностью или рецидивом после лечения ICI. Исследование было разработано, чтобы продемонстрировать, что CHA.7.518.1.H4(S241P) является безопасным, переносимым и демонстрирует предварительную противоопухолевую активность.

Методы:

Фаза 1a, повышение дозы монотерапии CHA.7.518.1.H4(S241P) с применением гибридного ускоренного и 3+3 дизайна исследований была проведена для определения безопасности, переносимости, оценки фармакокинетики (ФК), фармакодинамики, для определения рекомендуемой дозы фазы 2 и оценки предварительной противоопухолевой активности CHA.7.518.1.H4(S241P). Пациенты с функциональным статусом ECOG 0-1 и прогрессирующими солидными опухолями, которым не удалось получить стандартное лечение, имели право на включение. Предыдущие ICI были разрешены. CHA.7.518.1.H4(S241P) 0,01, 0,03, 0,1, 0,3, 1, 3 и 10 мг/кг в/в каждые 3 недели вводили до прогрессирования, непереносимой токсичности или по усмотрению исследователя или пациента. О побочных явлениях сообщали в соответствии с CTCAE v4.03, а противоопухолевую активность оценивали с помощью RECIST v1.1. Дозолимитирующую токсичность (DLT - dose-limiting toxicities) оценивали в пределах 21-дневного окна.

Результаты:

В общей сложности 13 пациентов были включены в исследование и получали лечение во время повышения дозы CHA.7.518.1.H4(S241P), в том числе 6 пациентов с метастатическим колоректальным раком (CRC), 5 с микросателлитным стабильным статусом (MSS) и 1 неизвестным. Пациенты получали интенсивное предварительное лечение в среднем из 7 предшествующих противоопухолевых терапий (диапазон 2-15). О DLT не сообщалось до уровня дозы CHA.7.518.1.H4(S241P) 10 мг/кг. Наиболее частыми проявлениями токсичности были утомляемость (8%), боль в животе (6%). Вероятные побочные явления, связанные с иммунитетом: повышение уровня ТТГ (TSH) и сыпь наблюдались у 2 пациентов. В целом 7/13 пациентов (54%) сохраняли наилучший ответ стабильного заболевания (SD) ≥ 12 недель (13,6 – 43 недели), в том числе 5/6 (83%)

пациентов с CRC. Пять пациентов продолжают получать исследуемое лечение. Занятость периферических рецепторов PVRIG ($\geq 90\%$) была продемонстрирована при дозе ≥ 1 мг/кг СНА.7.518.1.H4(S241P), а фармакокинетический профиль поддерживает еженедельное Q3 дозирование в/в.

Заключение:

Монотерапия СНА.7.518.1.H4(S241P) продемонстрировала приемлемый профиль безопасности и переносимости с предварительной противоопухолевой активностью в популяции пациентов, ранее неоднократно получавших противораковую терапию.

Литература:

1. Spencer L, Ofer L *et al*, Discovery of COM701, a therapeutic antibody targeting the novel immune checkpoint PVRIG, for the treatment of cancer. J Clin Oncol. 2017; (suppl; abstr 3074).

Пример 6: Данные продолжающейся фазы 1 исследования СНА.7.518.1.H4(S241P) у пациентов с запущенными солидными опухолями

СНА.7.518.1.H4(S241P) хорошо переносился, дозолимитирующей токсичности не наблюдалось.

Первоначальные сигналы противоопухолевой активности наблюдались у пациентов, получавших интенсивное предварительное лечение, в группе исследования с повышением дозы.

Предварительные результаты продолжающегося исследования фазы 1 повышения дозы СНА.7.518.1.H4(S241P), он является первым в своем классе анти-PVRIG антитела, у пациентов с солидными опухолями на поздних стадиях. СНА.7.518.1.H4(S241P) хорошо переносился и не вызывал дозолимитирующей токсичности. Кроме того, СНА.7.518.1.H4(S241P) продемонстрировал начальные сигналы противоопухолевой активности в популяции пациентов, получавших интенсивное предварительное лечение, включенных в исследование.

Появляющийся профиль безопасности и первоначальная противоопухолевая активность СНА.7.518.1.H4(S241P) обнадеживают. Основная цель этой части исследования состояла в том, чтобы проверить безопасность и переносимость СНА.7.518.1.H4(S241P) в популяции всех желающих, а также ранние сигналы противоопухолевой активности у трудно поддающихся лечению пациентов, включая пациентов с микросателлитным стабильным колоректальным раком (MSS-CRC). Мы ожидаем начала нашей расширенной когорты монотерапии СНА.7.518.1.H4(S241P) на основе биомаркеров у пациентов с раком яичников, эндометрия, молочной железы и легких. СНА.7.518.1.H4(S241P) может расширить спектр ингибиторов контрольных точек

по этим показаниям, которые мы выбрали на основе нашего понимания биологического пути PVRIG.

Расширение доступности препаратов для иммунотерапии рака для более широких групп пациентов является настоятельной необходимостью, учитывая количество пациентов с распространенным раком, которые не реагируют или не поддаются лечению доступными в данное время методами лечения. Первоначальные сигналы противоопухолевой активности СНА.7.518.1.Н4(S241P) обнадеживают, особенно учитывая обширную популяцию всех пациентов получаемых предварительное лечение, при этом большинство пациентов невосприимчивы к предыдущей терапии. Наблюдалась тенденция зависимости доза-реакция в этой трудно поддающейся лечению популяции пациентов, и, кроме того, обнадеживающий сигнал противоопухолевой активности у пяти из шести пациентов с колоректальным MSS, сложным показанием, как правило, не реагирующим на современные блокаторы иммунных контрольных точек.

Сообщаемые данные получены из группы монотерапии продолжающегося открытого исследования фазы 1 с повышением дозы и включают первые 6 когорт ($n = 13$) при уровнях доз 0,01, 0,03, 0,1, 0,3, 1, 3 и 10 мг/кг в/в каждые 3 недели.

Ключевые результаты:

СНА.7.518.1.Н4(S241P) хорошо переносился в дозе 10 мг/кг, при этом не наблюдалось дозолимитирующей токсичности.

Наилучший временной ответ стабильного заболевания (SD - stable disease)/уровень контроля заболевания отмечен у 9 из 13 пациентов (69%) с медианой семи предшествующих противоопухолевых терапий (диапазон 2 - 15).

Все пациенты с CRC ($N=6$) имели микросателлитный стабильный статус, 5/6 пациентов (83%) имели лучший временной ответ стабильного заболевания.

Фармакокинетический профиль поддерживает еженедельное Q3 в/в дозирование.

Занятость периферических рецепторов PVRIG, превышающая или равная 90%, была продемонстрирована при СНА.7.518.1.Н4(S241P) ≥ 1 мг/кг.

Осталось 3 пациента, получающих исследуемое лечение монотерапией СНА.7.518.1.Н4(S241P).

Включение в монотерапию СНА.7.518.1.Н4(S241P) в дозе 20 мг/кг Q4 еженедельно продолжается.

Об исследовании фазы 1 СНА.7.518.1.Н4(S241P)

Открытое клиническое исследование фазы 1 СНА.7.518.1.Н4(S241P) было разработано для оценки безопасности и переносимости монотерапии СНА.7.518.1.Н4(S241P) в возрастающих дозах, а также комбинированного применения с

Opdivo® компании Bristol-Myers Squibb у пациентов с запущенными солидными опухолями. Кроме того, вторичные конечные точки включают предварительную противоопухолевую активность, фармакокинетику и фармакодинамику монотерапии CNA.7.518.1.H4(S241P), а также CNA.7.518.1.H4(S241P) в комбинации с Опдиво у пациентов с отдельными типами опухолей, в том числе немелкоклеточного рака легкого, рака яичников, рака молочной железы и рака эндометрия. В исследование фазы 1, в котором, как ожидается, примут участие около 140 пациентов, в данное время проводится набор в Соединенных Штатах. Дополнительная информация доступна на сайте www.clinicaltrials.gov (NTC03667716).

Пример 7: Фаза 1 исследования безопасности, переносимости и предварительной противоопухолевой активности монотерапии CNA.7.518.1.H4(S241P) у пациентов с запущенными солидными опухолями

Уровень техники

CNA.7.518.1.H4(S241P) является новым первым в своем классе ингибитором иммунных контрольных точек (ICI) домена иммуноглобулина, связанного с рецептором полиовируса (PVRIG), обнаруженным в рамках программы компьютерных открытий Compugen [1]. Он ингибирует связывание PVRIG с его лигандом PVRL2.

PVRIG является членом сигнальной оси DNAM/TIGIT, регулирующей активность ТМК-клеток.

В доклинических экспериментах мы продемонстрировали, что ингибирование PVRIG приводит к активации Т-клеток в микроокружении опухоли, вызывая противоопухолевый иммунный ответ и ингибирование роста опухоли [2].

Существует острая необходимость в разработке методов лечения пациентов с рефрактерностью или рецидивом после лечения современными ICI.

Мы предположили, что CNA.7.518.1.H4(S241P) будет безопасным и переносимым и продемонстрирует предварительную противоопухолевую активность в качестве монотерапии у пациентов с распространенными солидными опухолями.

Основные критерии соответствия

Включение

- Возраст ≥ 18 лет
- Гистологически или цитологически подтвержденное местно-распространенное или метастатическое солидное злокачественное новообразование, исчерпавшее всю доступную стандартную терапию или не являющееся кандидатом на доступную стандартную терапию
- Функциональный статус ECOG 0-1

- Допускается предварительный ингибитор контрольной точки иммунитета
- Адекватная гематологическая, печеночная и почечная функция

Исключение

• Симптоматическое интерстициальное заболевание легких или воспалительный пневмонит

- Нелеченные или симптоматические метастазы в центральной нервной системе
- Иммунозависимые явления в анамнезе, которые привели к прекращению лечения иммунотерапией

Результаты

В оцененных диапазонах доз CHA.7.518.1.H4(S241P) (0,01–10 мг/кг) не сообщалось о дозолимитирующей токсичности.

О прекращении лечения из-за побочных явлений не сообщалось.

Большинство TEAE были G1-2.

- Частыми TEAE были утомляемость (46%), тошнота (31%) и тревога (23%) — все G1-2; прогрессирование заболевания G5 (23%)

• Возможными побочными явлениями, связанными с иммунной системой, были сыпь (G1) и лабораторное обнаружение повышенного уровня ТТГ (G1).

Серьезные побочные явления были зарегистрированы у 5/13 пациентов.

- У 3 пациентов СПЯ (SAE) были связаны с прогрессированием заболевания.

Все пациенты имели IV стадию заболевания на момент включения в исследование и 8/13 (62%) имели лучший ответ PD на последнюю предыдущую терапию (т.е. рефрактерное заболевание) до включения в это исследование.

- Наилучший временной ответ SD у 5/8 пациентов (63%), у 1/5 пациентов с подтвержденным SD и у 2 пациентов продолжаются исследования.

Наилучший временной ответ SD/уровень контроля над заболеванием отмечен у 9/13 пациентов (69%).

Колоректальный рак был наиболее распространенным типом опухоли, зарегистрированным у 6/13 пациентов, все 6 пациентов имели микросателлитный стабильный статус (MSS-CRC).

- Уровень контроля заболевания (SD) у 5/6 пациентов (83%) с CRC
- Подтвержденное SD (неделя 12) у 4/6 пациентов (67%) с CRC
- Исторические данные 11% DCR и лучший временной ответ SD на 12 неделе с пембролизумабом у пациентов с MSS-CRC [3]

Все 3 включенных пациента с мутацией CRC-kras имели лучший временной ответ SD; 2/3 с подтвержденным SD

CHA.7.518.1.H4(S241P) экспозиционная доза пропорциональна повторному дозированию

Заполняемость периферического рецептора CHA.7.518.1.H4(S241P) мг/кг в/в Q3 недели

Выводы

CHA.7.518.1.H4(S241P) хорошо переносится в виде монотерапии.

Показатель контроля заболевания — 9/13 баллов (69%).

Сигнал противоопухолевой активности у трудно поддающихся лечению MSS-CRC и пациентов с CRC с мутацией KRAS

- Подтвержденное SD у 4/6 пациентов (67%) - MSS-CRC
- Подтвержденное SD у 2/3 пациентов с мутацией CRC-kRAS

Сигнал противоопухолевого ответа у:

- пациентов с ранее леченным рефрактерным заболеванием
- пациентов, ранее получавших ICI

Тенденция зависимости доза-реакция

CHA.7.518.1.H4(S241P) экспозиция пропорциональна дозе, позволяющая вводить дозу в/в Q3 недели

Заполняемость периферических рецепторов при 90% с мг/кг CHA.7.518.1.H4(S241P) в/в Q3 недель

2 пациента продолжают прием исследуемого препарата

Включение в исследование продолжается в группах А (монотерапия CHA.7.518.1.H4(S241P)) и В (CHA.7.518.1.H4(S241P) в комбинации с ниволумабом)

Исследование NCT03667716 проводится в сотрудничестве с Bristol-Myers Squibb.

Литература

1. Whelan S, Ophir E, *et al.* *PVRIG and PVRL2 Are Induced in Cancer and Inhibit CD8+ T-cell Function.* Cancer Immunol Res. 2019 Feb;7(2):257-268.
2. Murter B, Pan X, *et al.* *Mouse PVRIG Has CD8+ T Cell-Specific Contributory Functions and Dampens Antitumor Immunity.* Cancer Immunol Res. 2019 Feb;7(2):244-256.
3. Le DT, Uram JN, Wang H, *et al.* *PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency.* 2015 Jun 25;372(26):2509-20.

Пример 8: Фаза 1 исследования CHA.7.518.1.H4(S241P) монотерапии и в комбинации с ниволумабом у пациентов с запущенными солидными опухолями.

Уровень техники

CHA.7.518.1.H4(S241P) представляет собой новое первое в своем классе гуманизированное моноклональное антитело IgG4, которое с высокой аффинностью

связывается с доменом иммуноглобулина, связанным с рецептором полиовируса (PVRIG), блокируя его взаимодействие с его лигандом, PVRL2 [1]

Ниволумаб представляет собой антитело к PD-1, одобренное для лечения пациентов с несколькими злокачественными новообразованиями [2].

Ингибиторы PD-1 играют важную роль в этой оси, модулируя активацию DNAM [3].

В доклинических экспериментах мы продемонстрировали, что ингибирование PVRIG отдельно и в сочетании с анти-PD-1 приводит к активации Т-клеток в микроокружении опухоли, вызывая противоопухолевый иммунный ответ и ингибирование роста опухоли [1].

Несмотря на то, что ICI произвел революцию в лечении рака, существует острая необходимость в разработке методов лечения пациентов с рефрактерностью или рецидивом после лечения ICI.

Мы предполагаем, что CNA.7.518.1.H4(S241P) будет безопасным и переносимым и продемонстрирует противоопухолевую активность у пациентов с R/R солидными опухолями.

Способы

NCT03667716 — это продолжающееся открытое исследование фазы 1 на людях у пациентов с R/R солидными опухолями.

Мы сообщаем о начальной части этого исследования, оценивающей безопасность и переносимость возрастающих доз монотерапии CNA.7.518.1.H4(S241P) в/в Q3 недели и в комбинации с ниволумабом 360 мг в/в Q3 недели.

Основные показатели результата

Оценить профиль безопасности CNA.7.518.1.H4(S241P) в качестве монотерапии и в комбинации с ниволумабом у пациентов с солидными опухолями поздних стадий.

Частота побочных явлений и дозо-ограничивающая токсичность (21-дневное окно DLT), классифицированная в соответствии с CTCAE v4.03.

Для определения максимально переносимой дозы и/или рекомендуемой дозы для увеличения дозы

Охарактеризовать ФК профиль CNA.7.518.1.H4(S241P) в качестве монотерапии и в комбинации с ниволумабом.

Вторичные показатели результатов

Охарактеризовать иммуногенность CNA.7.518.1.H4(S241P) отдельно и в комбинации с ниволумабом

Оценить предварительную противоопухолевую активность CNA.7.518.1.H4(S241P)

в сочетании с ответами на ниволумаб (только фаза 1b) в соответствии с RECIST v1.1.

Исследовательские показатели результатов

Оценить предварительную противоопухолевую активность CHA.7.518.1.H4(S241P) в качестве монотерапии.

Чтобы оценить любую связь членов оси DNAM с клиническим исходом

Изучить доказательства CHA.7.518.1.H4(S241P)-опосредованного PD эффекта в крови в качестве монотерапии, а также в комбинации с ниволумабом.

Основные критерии включения

Возраст ≥ 18 лет

Гистологически или цитологически подтвержденное местно-распространенное или метастатическое солидное злокачественное новообразование, исчерпавшее всю доступную стандартную терапию или не являющееся кандидатом на доступную стандартную терапию

Функциональный статус ECOG 0-1

Допускаются анти-PD-1, анти-PD-L1, анти-CTLA-4, OX-40, CD137.

Адекватная гематологическая, печеночная и почечная функция

Основные критерии исключения

Активное аутоиммунное заболевание, требующее системной терапии в течение последних 2 лет до первой дозы CHA.7.518.1.H4(S241P)

Симптоматическое интерстициальное заболевание легких или воспалительный пневмонит

Нелеченные или симптоматические метастазы в центральной нервной системе

Иммунозависимые явления в анамнезе, которые привели к прекращению лечения иммунотерапией.

Вводная информация

Дозолимитирующая токсичность не наблюдалась при 7-м уровне дозы монотерапии CHA.7.518.1.H4(S241P) и более ранних уровнях дозы (красная рамка).

Дозолимитирующая токсичность не наблюдалась при 3-м уровне дозы CHA.7.518.1.H4(S241P) + ниволумаб и более ранних уровнях дозы (зеленая рамка).

На дату этой презентации 8-я монодоза CHA.7.518.1.H4(S241P) и 4-я доза CHA.7.518.1.H4(S241P) + ниволумаб открыты для включения во в/в график Q4 недель.

Исследование NCT03667716 проводится в сотрудничестве с Bristol-Myers Squibb.

Ссылка

Spencer L, Ofer L et al, Discovery of COM701, a therapeutic antibody targeting the novel immune checkpoint PVRIG, for the treatment of cancer. J Clin Oncol. 2017; (suppl; abstr

3074).

Вкладыш в упаковку ниволумаба. http://packageinserts.bms.com/pi/pi_opdivo.pdf.
Получено 22.07.2019.

Wang B, Zhang W et al., Combination cancer immunotherapy targeting PD-1 and GITR can rescue CD8⁺ T cell dysfunction and maintain memory phenotype. *Sci. Immunol.* 2018; Nov 2:3(29).

Пример 9: CHA.7.518.1.H4(S241P) демонстрирует противоопухолевую активность в виде монотерапии и в комбинации с ниволумабом у пациентов с запущенными злокачественными новообразованиями

Уровень техники

Введение:

CHA.7.518.1.H4(S241P) представляет собой новый первый в своем классе ингибитор иммунных контрольных точек (ICI), который с высокой аффинностью связывается с доменом иммуноглобулина, связанным с рецептором полиовируса (PVRIG), блокируя его взаимодействие с его лигандом, PVRL2, и регулируя активности Т/НК-клеток через ось DNAM/TIGIT. В доклинических экспериментах ингибирование PVRIG отдельно и в сочетании с анти-PD1 и/или TIGIT приводит к ингибированию роста опухоли и активации Т-клеток в микроокружении, генерирующих противоопухолевый ответ.

Методы:

Всего было включено 28 пациентов (группа А/В 16/12) с различными типами рака (включая пациентов с различными типами опухолей, у которых все доступные стандартные методы лечения оказались неэффективными). 16 пациентов в группе А (повышение дозы монотерапии CHA.7.518.1.H4(S241P)) и 12 пациентов в группе В (повышение дозы CHA.7.518.1.H4(S241P) с ниволумабом). Гибридный ускоренный дизайн (1-я когорта с 4 дозами в группе А) и дизайн исследования 3+3 (когорты 5-8 в группе А и все когорты в группе В). Пациенты с функциональным статусом ECOG 0-1 и прогрессирующими или метастатическими солидными опухолями, которым не помогло стандартное лечение, имели право на участие. Предыдущие ICI были разрешены. В группе А пациенты получали монотерапию CHA.7.518.1.H4(S241P) 0,01, 0,03, 0,1, 0,3, 1, 3, 10 мг/кг (все в/в Q3 недели (нед.)) и 20 мг/кг (в/в Q4 недели). В группе В пациенты получали CHA.7.518.1.H4(S241P) в дозе 0,3, 1 или 3 мг/кг плюс ниволумаб 360 мг в/в q3 недели (3 пациента/доза когорты) и 3 пациента получали 10 мг/кг плюс ниволумаб 480 мг в/в q4 недели. Побочные явления, возникающие при лечении (TEAE), были зарегистрированы в соответствии с CTCAE v4.03, а ответы - в соответствии с RECIST v1.1. Дозолимитирующую токсичность (DLT) оценивали в пределах 21-дневного или 28-

дневного окна (для 3- или 4-недельного режима дозирования соответственно). Дата окончания сбора данных: 23 января 2020 г.

Результаты:

Среднее количество предшествующих противоопухолевых терапий было: группа А, 7 (диапазон 2-15), группа В, 5 (диапазон 2-9). Ни в одной из когорт доз не сообщалось о DLT. Лечение хорошо переносилось, ни один субъект не прекратил лечение из-за токсичности, наиболее частыми TEAE в группе А были утомляемость (46%), тошнота (31%) и тревожность (23%) — все G1-2. В группе В ≥ 4 пациента - анемия, отеки нижних конечностей, сыпь и утомляемость в большинстве случаев относятся к 1-2 степени (88%). В группах А+В: частичный ответ (PR) + стабильное заболевание (SD) составил 57% (16/28). Следует отметить: Группа А (СНА.7.518.1.Н4(S241P) 20 мг/кг в/в q4 недели): подтвержденный PR у пациента с первичным раком брюшины, продолжающимся при лечении > 15 недель. Группа В: неподтвержденный PR у пациента с MSS-CRC на СНА.7.518.1.Н4(S241P) 0,3 мг/кг плюс ниволумаб. Подтвержденный частичный ответ у пациента с микросателлитным стабильным первичным раком брюшины, включенного в когорту с восьмой и последней дозой в группе А; пациент продолжает получать исследуемое лечение (более 15 недель).

360 мг в/в q3 недели, продолжающееся лечение >34 недель.

В целом 11/28 пациентов продолжают получать исследуемое лечение, включая 3 пациентов, которые не прошли первую визуализирующую оценку. Для обеих групп лечения временной ответ частичного ответа и стабильная частота заболевания/контроля заболевания были зарегистрированы у 16 из 28 пациентов (57%).

Заключение:

СНА.7.518.1.Н4(S241P) хорошо переносится как в качестве монотерапии, так и в комбинации с ниволумабом у различных пациентов, ранее получавших интенсивное лечение, с распространенными или метастатическими солидными опухолями. СНА.7.518.1.Н4(S241P) демонстрирует обнадеживающую предварительную противоопухолевую активность с объективными ответами в виде монотерапии и в комбинации с ниволумабом при трудноизлечимых типах опухолей (первичный перитонеальный, микросателлитно-стабильный первичный перитонеальный рак (MSS первичный перитонеальный рак или MSS-PPC), и микросателлитный стабильный колоректальный рак (MSS-CRC)).

Пример 10: CHA.7.518.1.H4(S241P) проявляет противоопухолевую активность в качестве монотерапии и в комбинации с ниволумабом у пациентов с запущенными злокачественными новообразованиями

Введение:

Существует большая неудовлетворенная медицинская потребность в лечении пациентов с рефрактерностью или рецидивом после лечения ингибиторами контрольных точек.

Ингибирование домена иммуноглобулина, связанного с рецептором полиовируса (PVRIG), приводит к усиленной активации Т- и НК-клеток и приводит к ингибированию роста опухоли на моделях опухолей у мышей (Spencer L, Ofer L et al, Discovery of COM701, a therapeutic antibody targeting the novel. immune checkpoint PVRIG, for the treatment of cancer. J Clin Oncol. 2017; (suppl; abstr 3074).

CHA.7.518.1.H4(S241P) представляет собой новое первое в своем классе гуманизированное моноклональное антитело IgG4, которое с высокой аффинностью связывается с PVRIG, блокируя его взаимодействие с его лигандом, PVRL2.

Предыдущие данные подтверждают предварительную противоопухолевую активность монотерапии CHA.7.518.1.H4(S241P) (Dumbrava E, Fleming G, Hamilton E et al. Journal for ImmunoTherapy of Cancer 2019, 7(Suppl 1):P421. SITC Nov 2019.)

В настоящих данных представлены данные, относящиеся к предварительной безопасности и противоопухолевой активности CHA.7.518.1.H4(S241P) в комбинации с ниволумабом (Группа В), и мы предоставляем обновленные данные в когортах монотерапевтической дозы CHA.7.518.1.H4(S241P) (Группа А).

CHA.7.518.1.H4(S241P) хорошо переносится и с управляемым профилем безопасности в качестве монотерапии и в комбинации с ниволумабом:

- a. Нет повышения токсичности в комбинации с ниволумабом.
- b. Ни один из субъектов не прекратил прием исследуемого препарата из-за токсичности какого-либо исследуемого препарата.

Моноагент MTD CHA.7.518.1.H4(S241P) 20 мг/кг в/в Q4 недели; комбинированное увеличение дозы продолжается.

Подтвержден частичный ответ у 2 пациентов.

CHA.7.518.1.H4(S241P) монотерапия 20 мг/кг в/в Q4 недели - первичный перитонеальный рак (продолжается лечение в течение 25 недель).

CHA.7.518.1.H4(S241P), (CHA.7.518.1.H4(S241P) 0,3 мг/кг в/в Q3 недели) + ниволумаб (480 мг в/в q 3 недели) - MSS-CRC (продолжается лечение в рамках исследования 44 недели).

Уровень контроля заболевания при монотерапии CHA.7.518.1.H4(S241P) составил 11/16 [69%] при различных типах опухолей.

Уровень контроля заболевания для CHA.7.518.1.H4(S241P) + ниволумаб составил 9/12 [75%] при различных типах опухолей.

Длительное стабильное заболевание ($SD > 6$ месяцев) у 6/28 пациентов и различные типы опухолей.

Группа А (монотерапия CHA.7.518.1.H4(S241P)): Адено-кистозный CA, CRC-MSS.

Группа В (CHA.7.518.1.H4(S241P) + ниволумаб): анальный SCC, CRC-MSS, эндометриальный, NSCLC (плоскоклеточный).

Предварительный ФК профиль CHA.7.518.1.H4(S241P) поддерживает дозирование Q4 недель.

CHA.7.518.1.H4(S241P) запланировано увеличение дозы монотерапии при RDFE (NSCLC, OVCA, молочной железы, эндометрия, MSS-CRC).

Все заголовки и обозначения разделов используются только для ясности и в справочных целях, и никоим образом не должны рассматриваться как ограничивающие. Например, специалисты в данной области техники оценят полезность комбинирования различных аспектов данного раскрытия из разных заголовков и разделов, в зависимости от ситуации, в соответствии с сущностью и объемом изобретения, описанного в данном документе.

Все источники, процитированные в данном документе, тем самым включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме и для всех целей в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, патент или патентная заявка была специально и индивидуально указана как включенная посредством ссылки в полном объеме и для всех целей.

Многие модификации и вариации данной заявки могут быть выполнены без отклонения от ее сущности и объема, как будет очевидно для специалистов в данной области техники. Конкретные варианты осуществления данного изобретения и примеры, описанные в настоящем документе, приведены исключительно в качестве примеров, и настоящее изобретение ограничено исключительно текстом прилагаемой формулы изобретения наряду с полным объемом эквивалентов, на которые распространяется формула изобретения

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака, включающий введение ниволумаба и анти-PVRIG антитела, при этом указанное анти-PVRIG антитело вводят в виде стабильного жидкого фармацевтического состава и при этом стабильный жидкий фармацевтический состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, отличающееся тем, что указанное анти-PVRIG антитело содержит:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 mM до 100 mM гистидина;

(c) от 30 mM до 100 mM NaCl;

(d) от 20 mM до 150 mM L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,
при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

2. Способ лечения по любому из п. 1, отличающийся тем, что указанное анти-PVRIG антитело содержит последовательность CH1-шарнир-CH2-CH3 IgG4 (SEQ ID NO: 17 или SEQ ID NO: 50), при этом указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

3. Способ лечения по любому из п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что указанное анти-PVRIG антитело содержит участок CH1-шарнир-CH2-CH3 из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, при этом указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

4. Способ лечения по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что указанный вариабельный домен тяжелой цепи происходит из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), а указанный вариабельный домен легкой цепи происходит из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9).

5. Способ лечения по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что указанное анти-PVRIG антитело содержит CL-участок легкой цепи каппа-2 человека.

6. Способ лечения по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что указанный фармацевтический состав содержит от 10 mM до 80 mM гистидина, от 15 mM до 70 mM гистидина, от 20 mM до 60 mM гистидина, от 20 mM до 50 mM гистидина или от 20 mM до 30 mM гистидина.

7. Способ лечения по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что указанный фармацевтический состав содержит около 25 mM гистидина.

8. Способ лечения по любому из пп. 1-7, отличающийся тем, что указанный фармацевтический состав содержит от 30 мМ до 100 мМ NaCl, от 30 мМ до 90 мМ NaCl, от 40 мМ до 80 мМ NaCl, от 30 мМ до 70 мМ гистидина или от 45 мМ до 70 мМ NaCl.

9. Способ лечения по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что указанный фармацевтический состав содержит около 60 мМ NaCl.

10. Способ лечения по любому из пп. 1-9, отличающийся тем, что указанный фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 140 мМ L-аргинина, от 30 мМ до 140 мМ L-аргинина, от 40 мМ до 130 мМ L-аргинина, от 50 мМ до 120 мМ L-аргинина, от 60 мМ до 110 мМ L-аргинина, от 70 мМ до 110 мМ L-аргинина, от 80 мМ до 110 мМ L-аргинина или от 90 мМ до 110 мМ L-аргинина.

11. Способ лечения по любому из пп. 1-10, отличающийся тем, что указанный фармацевтический состав содержит около 100 мМ L-аргинина.

12. Способ лечения по любому из пп. 1-11, отличающийся тем, что указанный фармацевтический состав содержит от 0,006% до 0,1% масс./об. полисорбата 80, от 0,007% до 0,09% масс./об. полисорбата 80, от 0,008% до 0,08% масс./об. полисорбата 80, от 0,009% до 0,09% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,08% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80, или от 0,01% до 0,06% масс./об. полисорбата 80, или от 0,009% до 0,05% масс./об. полисорбата 80.

13. Способ лечения по любому из пп. 1-12, отличающийся тем, что указанный фармацевтический состав содержит около 0,01% полисорбата 80.

14. Способ лечения по любому из пп. 1-13, отличающийся тем, что указанный pH составляет от 6 до 7,0.

15. Способ лечения по любому из пп. 1-14, отличающийся тем, что указанный pH составляет от 6,3 до 6,8.

16. Способ лечения по любому из пп. 1-15, отличающийся тем, что указанный pH составляет 6,5 +/- 0,2.

17. Способ лечения по любому из пп. 1-16, отличающийся тем, что указанное анти-PVRIG антитело находится в концентрации от 10 мг/мл до 40 мг/мл, от 15 мг/мл до 40 мг/мл, 15 мг/мл до 30 мг/мл, от 10 мг/мл до 25 мг/мл или от 15 мг/мл до 25 мг/мл.

18. Способ лечения по любому из пп. 1-17, отличающийся тем, что указанный состав стабилен при температуре от 2°C до 8°C в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель или 10 недель.

19. Способ лечения по любому из пп. 1-18, отличающийся тем, что указанный состав стабилен при температуре от около 20°C до 25°C в течение по меньшей мере 1

недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель или 6 недель.

20. Способ лечения по любому из пп. 1-19, отличающийся тем, что указанный состав стабилен при температуре от 35°C до 40°C в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель или 5 недель.

21. Способ лечения по любому из пп. 1-20, отличающийся тем, что указанное анти-PVRIG антитело находится в концентрации около 20 мг/мл.

22. Способ лечения по любому из пп. 1-21, отличающийся тем, что указанный состав анти-PVRIG антитела содержит:

а) тяжелую цепь, содержащую:

i) VH-CH1-шарнир-CH2-CH3, при этом VH происходит из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и при этом участок CH1-шарнир-CH2-CH3 происходит из IgG4; и

b) легкую цепь, содержащую:

i) VL-CL, при этом VL происходит из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9), и при этом CL-участок происходит из легкой цепи каппа-2 человека.

23. Способ лечения по п. 24, отличающийся тем, что указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

24. Способ лечения по п. 23, отличающийся тем, что указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

25. Способ лечения по любому из пп. 1-24, отличающийся тем, что указанный состав анти-PVRIG антитела содержит:

i) тяжелую цепь, содержащую тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, содержащую легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13).

26. Способ лечения по любому из пп. 1-25, отличающийся тем, что указанный состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, отличающееся тем, что указанное анти-PVRIG антитело содержит:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) около 25 mM гистидина;

(c) около 60 mM NaCl;

(d) около 100 mM L-аргинина; и

(е) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

27. Способ лечения по любому из пп. 1-26, отличающийся тем, что указанный состав анти-PVRIG антитела содержит:

(а) анти-PVRIG антитело, отличающееся тем, что указанное анти-PVRIG антитело содержит:

i) тяжелую цепь, содержащую тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, содержащую легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) около 25 mM гистидина;

(c) около 60 mM NaCl;

(d) около 100 mM L-аргинина; и

(е) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,
при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

28. Способ лечения по любому из пп. 1-27, отличающийся тем, что указанное анти-PVRIG антитело вводят в дозе от около 0,01 мг/кг до около 20 мг/кг анти-PVRIG антитела или около 0,01 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела.

29. Способ лечения по любому из пп. 1-27, отличающийся тем, что указанное анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг анти-PVRIG антитела.

30. Способ лечения по любому из пп. 1-29, отличающийся тем, что указанный ниволумаб вводят в дозе около 360 мг ниволумаба или 480 мг ниволумаба.

31. Способ лечения по любому из пп. 1-30, отличающийся тем, что указанное анти-PVRIG антитело вводят в дозе 20 мг/кг каждые 4 недели.

32. Способ лечения по любому из пп. 1-31, отличающийся тем, что указанный рак выбран из группы, состоящей из рака предстательной железы, рака печени (HCC), колоректального рака (CRC - colorectal cancer), колоректального рака MSS (MSS-CRC; включая рефрактерный колоректальный MSS), CRC (MSS неизвестный), рака яичников (включая рак яичников), рака эндометрия (включая рак эндометрия), рака молочной железы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака щитовидной железы, рака яичек, рака уротелия, рака легких, меланомы, немеланомного рака кожи (плоскоклеточный и базально-клеточный рак), глиомы, почечно-клеточного рака (RCC - renal cell cancer), почечно-клеточного рака (RCC), лимфомы (неходжкинская лимфома (NHL - non-Hodgkins' lymphoma) и лимфомы

Ходжкина (HD - Hodgkin's lymphoma)), острого миелоидного лейкоза (AML - Acute myeloid leukemia), Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза (Т-ALL), диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, опухоли зародышевых клеток яичка, мезотелиомы, рака пищевода, тройного негативного рака молочной железы, рака из клеток Меркеля, MSI-высокого рака, мутантных опухолей KRAS, Т-клеточного лейкоза/лимфомы взрослых, мезотелиомы плевры, анального SCC, нейроэндокринного рака легкого (включая нейроэндокринную карциному легкого), NSCLC, NSCL (крупноклеточный), крупноклеточного NSCLC, плоскоклеточного NSCLC, SCC шейки матки, злокачественной меланомы, рака поджелудочной железы, аденокарциномы поджелудочной железы, NSCLC, адено-кистозного рака (включая адено-кистозную карциному), первичного рака брюшины, стабильного микросателлитного первичного рака брюшины, резистентного к платине микросателлитного стабильного первичного рака брюшины и/или миелодиспластических синдромов (MDS).

33. Комбинированное лечение на основе ниволумаба и анти-PVRIG антитела по любому из способов лечения по пп. 1-32 для применения в способе лечения рака.

34. Применение по п. 33, отличающееся тем, что указанный рак выбран из группы, состоящей из рака предстательной железы, рака печени (HCC), колоректального рака (CRC - colorectal cancer), колоректального рака MSS (MSS-CRC; включая рефрактерный колоректальный MSS), CRC (MSS неизвестный), рака яичников (включая рак яичников), рака эндометрия (включая рак эндометрия), рака молочной железы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака щитовидной железы, рака яичек, рака уротелия, рака легких, меланомы, немеланомного рака кожи (плоскоклеточный и базально-клеточный рак), глиомы, почечно-клеточного рака (RCC - renal cell cancer), почечно-клеточного рака (RCC), лимфомы (неходжкинская лимфома (NHL - non-Hodgkins' lymphoma) и лимфомы Ходжкина (HD - Hodgkin's lymphoma)), острого миелоидного лейкоза (AML - Acute myeloid leukemia), Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза (Т-ALL), диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, опухоли зародышевых клеток яичка, мезотелиомы, рака пищевода, тройного негативного рака молочной железы, рака из клеток Меркеля, MSI-высокого рака, мутантных опухолей KRAS, Т-клеточного лейкоза/лимфомы взрослых, мезотелиомы плевры, анального SCC, нейроэндокринного рака легкого (включая нейроэндокринную карциному легкого), NSCLC, NSCL (крупноклеточный), крупноклеточного NSCLC, плоскоклеточного NSCLC, SCC шейки матки, злокачественной меланомы, рака поджелудочной железы, аденокарциномы поджелудочной железы, NSCLC, адено-кистозного рака (включая адено-кистозную карциному), первичного рака брюшины, стабильного микросателлитного

первичного рака брюшины, резистентного к платине микросателлитного стабильного
первичного рака брюшины и/или миелодиспластических синдромов (MDS).

ФИГ. 1

трансмембранный белок PVRIG [Homo sapiens]

Номер последовательности в NCBI: NP_076975.

1 mrteaqpval qppepglega mghrtlvlpw vlltlcvtag tpevwvqyrm eatelssfti

61 rcgflgsgsi slvtvswggp ngaggttlav lhpergirqw apaqarwet qssislileg

121 sgasspcant tfcckfasfp egswacgsi ppssdpglsa pptpapilra dlagilgvsg

181 vllfgcvyll hllrrhkhrr aprlqpsrts pqaprarawa psqasqaalh vpyatintsc

241 rpatldtahr hggpswwasl pthaahrpqg paawastpip argsfvsven glyaqagerp

301 phtgpgltlf pdprgprame gplgvr

(SEQ ID NO: 1)

ФИГ. 2

альфа-изоформа FVLR2 человека

>gi|5360210|ref|NP_002847.1| Предшественник альфа-изоформы нектин-2 [Homo sapiens]

MARAAALLPSRPPTPLWPLLLLLLLETGAQDVRVQVLPFVRGQLGGTVLPCHLPPVPGLYISLVTW
QRPDAPANHQNVAAFHPKMGPSFSPKPGSERLSFVSAKQSTGQDTEAELQDATLALHGLTVEDEGNYTC
EFATFPKGSVRGMTWLRVIAKPKNQAEAQKVTFSDPTTVALCISKEGRPPARISWLSLSDWEAKETQVS
GTLAGTVTVTSRFTLVPSGRADGVTVTCVVEHESFEPPALIPVTLVRYPPPEVSISGYDDNWYLGRTDAT
LSCDVRNPEPTGYDWSTTSGTFPTSAVAQGSQQLVIHAVDSLNTTFVCTVTNAVGMGRAEQVIFVRETP
RASPRDVGPPLVWGAVGGTLLVLLLAGGSLAFILLRVRRRKSPGGAGGGASGDGGFYDPAQVVLGNQDP
VFWTFPVPGFMEPDGKDEEEEEEEKAEKGLMLPPPPALEDDMESQLDGSLSRRVYV

(SEQ ID NO: 2)

дельта-изоформа FVLR2 человека

>gi|112789532|ref|NP_001036189.1| Предшественник дельта-изоформы нектин-2

MARAAALLPSRPPTPLWPLLLLLLLETGAQDVRVQVLPFVRGQLGGTVLPCHLPPVPGLYISLVTW
QRPDAPANHQNVAAFHPKMGPSFSPKPGSERLSFVSAKQSTGQDTEAELQDATLALHGLTVEDEGNYTC
EFATFPKGSVRGMTWLRVIAKPKNQAEAQKVTFSDPTTVALCISKEGRPPARISWLSLSDWEAKETQVS
GTLAGTVTVTSRFTLVPSGRADGVTVTCVVEHESFEPPALIPVTLVRYPPPEVSISGYDDNWYLGRTDAT
LSCDVRNPEPTGYDWSTTSGTFPTSAVAQGSQQLVIHAVDSLNTTFVCTVTNAVGMGRAEQVIFVRETP
NTAGAGATGGIGGTIAAIIATAVAATGILICRQQRKEQTLQGAEEDEDELEGPPSYKPTPKAKLEAQEM
PSQLFTLGASEHSPLKTFYFDAGASCTEQEMPRYHELPTLEERSGPLHPGATSLGSPFIPVPPGPPAVEDV
SLDLEDEEGEEEEYLDKINPIYDALSY

(SEQ ID NO: 3)

ФИГ. 3

СНА.7.518.1.H4(S241P)

Что	последовательность	SEQ ID NO:
Вариабельный домен тяжелой цепи (vh)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNINWVRQAPGQGLEWMGYIYPYIGGSGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELESSLRSEDTAVYYCAREDKTARNAMDYWGQGTLLTVSS	4
vhCDR1	GYTFTDYN	5
vhCDR2	IYPYIGGS	6
vhCDR3	AREDKTARNAMDY	7
Полная длина HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNINWVRQAPGQGLEWMGYIYPYIGGSGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELESSLRSEDTAVYYCAREDKTARNAMDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFELYSLRTVVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	8
Вариабельный домен легкой цепи (vl)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTHTCRVSENIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYEATNLAEGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHFWGTPYTFGQGTKLEIK	9
vlCDR1	ENIYSN	10
vlCDR2	EAT	11
vlCDR3	QHFWGTPYT	12
Полная длина легкой цепи	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTHTCRVSENIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYEATNLAEGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHFWGTPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	13

ФИГ. 4

IgG1:

ASTKGPSVFF	LAPSSKSTSG	GTAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV	HTFPAVLQSS	60
GLYSLSSVVT	VPSSSLGTQT	YICNVNHKPS	NTKVDKKVEP	KSCDKTHTCP	PCPAPELLGG	120
PSVFLFPPKF	KDTLMISRTF	EVTCTVVVDVS	HEDPEVKFNW	YVDGVEVHNA	KTKPREEQYN	180
STYRVVSVLT	VLHQDWLNGK	EYKCKVSNKA	LPAPTEKTIS	KAKGQPREPQ	VYTLPPSRDE	240
LTKNQVSLTC	LVKGFYPSDI	AVEWESNGQP	ENNYKTTTPV	LDSDGSSEFLY	SKLTVDKSRW	300
QQGNVFSCSV	MHEALHNHYT	QKSLSLSPGK				330

(SEQ ID NO:14)

IgG2:

ASTKGPSVFF	LAPCSRSTSE	STAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV	HTFPAVLQSS	60
GLYSLSSVVT	VPSSNFGTQT	YTCNVNHHKPS	NTKVDKTVER	KCCVECPPCP	APPVAGPSVF	120
LFPPKPKDTL	MISRTPEVTC	VVVDVSHEDP	EVQFNWYVDG	VEVHNAKTKP	REEQFNSTFR	180
VVSVLTVVHQ	DWLNGKEYKC	KVSNKGLPAP	IEKTIKSTKG	QPREPQVYTL	PPSREEMTKN	240
QVSLTCLVKG	FYPSDIAVEW	ESNGQPENNY	KTTTPMLDSD	GSEFLYSKLT	VDKSRWQQGN	300
VFSCSVMHFA	LHNHYTQKSL	SLSPGK				326

(SEQ ID NO:15)

IgG3:

ASTKGPSVFF	LAPCSRSTSG	GTAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV	HTFPAVLQSS	60
GLYSLSSVVT	VPSSSLGTQT	YTCNVNHHKPS	NTKVDKRVEL	KTELGDTTHT	CPRCPPEPKSC	120
DTFPFCPRCP	EPKSCDTPPP	CPRCPPEPKSC	DTFPFCPRCP	APELLGGPSV	FLFPPKPKDT	180
LMSRTPEVT	CVVVDVSHED	PEVQFKWYVD	GVEVHNAKTK	PREEQYNSTF	RVVSVLTVLH	240
QDWLNGKEYK	CKVSNKALPA	PIEKTISKTK	GQPREPQVYT	LPPSREEMTK	NQVSLTCLVK	300
GFYPSDIAVE	WESGQPENN	YNTTPPELDS	DGSFFLYSKL	TVDKSRWQQG	NIFSCSVMHF	360
ALHNRTQKS	LSLSPGK					377

(SEQ ID NO:16)

IgG4:

ASTKGPSVFF	LAPCSRSTSE	STAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV	HTFPAVLQSS	60
GLYSLSSVVT	VPSSSLGTKT	YTCNVNHHKPS	NTKVDKRVES	KYGPPCPSCP	APFELGGPSV	120
FLFPPKPKDT	LMSRTPEVT	CVVVDVSHED	PEVQFNWYVD	GVEVHNAKTK	PREEQFNSTY	180
RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK	CKVSNKGLPS	SIEKTISKAK	GQPREPQVYT	LPPSQEEMTK	240
NQVSLTCLVK	GFYPSDIAVE	WESNGQPENN	YKTTPEVLDS	DGSFFLYSRL	TVDKSRWQEG	300
NVFSCSVMHF	ALHNHYTQKS	LSLSLGK				327

(SEQ ID NO:17)

IgG4 из SEQ ID NO:8

ASTKGPSVFF	LAPCSRSTSE	STAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV	HTFPAVLQSS	60
GLYSLSSVVT	VPSSSLGTKT	YTCNVNHHKPS	NTKVDKRVES	KYGPPCPSCP	APFELGGPSV	120
FLFPPKPKDT	LMSRTPEVT	CVVVDVSHED	PEVQFNWYVD	GVEVHNAKTK	PREEQFNSTY	180
RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK	CKVSNKGLPS	SIEKTISKAK	GQPREPQVYT	LPPSQEEMTK	240
NQVSLTCLVK	GFYPSDIAVE	WESNGQPENN	YKTTPEVLDS	DGSFFLYSRL	TVDKSRWQEG	300
NVFSCSVMHF	ALHNHYTQKS	LSLSLGK				327

(SEQ ID NO:50)

ФИГ. 5А

Из WO 2017/041004

Что	последовательность	SEQ ID NO:
Тяжелая цепь (SEQ ID NO:5 из WO 2017/041004)	EVQLQQSGAELVRSGASVKMSCKVNDYFTFTNYNMHWLRQTPGQGLEWIGYIYPGNGDTNYNQKF KGKATLTADTSSSTAYMQIISLTSEDPAVYFCARQGIHYYYIDVWGAGTTVTVSSG	18
vhCDR1 (SEQ ID NO:6 из WO 2017/041004)	DYFTFTNYNMH	19
vhCDR2 (SEQ ID NO:7 из WO 2017/041004)	YIYPGNGDTNYNQ	20
vhCDR3 (SEQ ID NO:8 из WO 2017/041004)	QGIHYYYIDV	21
Легкая цепь (SEQ ID NO:3 из WO 2017/041004)	DIEMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSIRDYLVHWYQQKSHESPRLLIKYVSQSIGIPSRFSGSGSGSEF TLSINSVEPEDVGVYYCQNGHSLPLTFGSGTKLEIKRTV	22
vlCDR1 (SEQ ID NO:9 из WO 2017/041004)	RASQSIRDYLH	23
vlCDR2 (SEQ ID NO:10 из WO 2017/041004)	YVSQSIG	24
vlCDR3 (SEQ ID NO:11 из WO 2017/041004)	QNGHSLPLT	25

ФИГ. 5В

Из WO 2017/041004

Что	последовательность	SEQ ID NO:
Тяжелая цепь (SEQ ID NO:32 из WO 2017/041004)	QVQLQQSGAELAKPGASVKMSCKASGYTFTSDWMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSTGYTEYNQKFK DKATLTADKSSSTAYMQLRSLTSEDSAVYYCARGSSGSWFAYWGQGTLVTVSA	26
vhCDR1 (SEQ ID NO:34 из WO 2017/041004)	SDWMH	27
vhCDR2 (SEQ ID NO:35 из WO 2017/041004)	YINPSTGYTEYNQKFKD	28
vhCDR3 (SEQ ID NO:36 из WO 2017/041004)	GSSGSWFAY	29
Легкая цепь (SEQ ID NO:33 из WO 2017/041004)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPLIKYASNLESGVPAREFGS GSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPYTFGGGTKLEIK	30
vlCDR1 (SEQ ID NO:37 из WO 2017/041004)	RASQSVSTSSYSYMH	31
vlCDR2 (SEQ ID NO:38 из WO 2017/041004)	YASNLES	32
vlCDR3 (SEQ ID NO:39 из WO 2017/041004)	QHSWEIPYT	33

ФИГ. 5C

Из WO 2017/041004

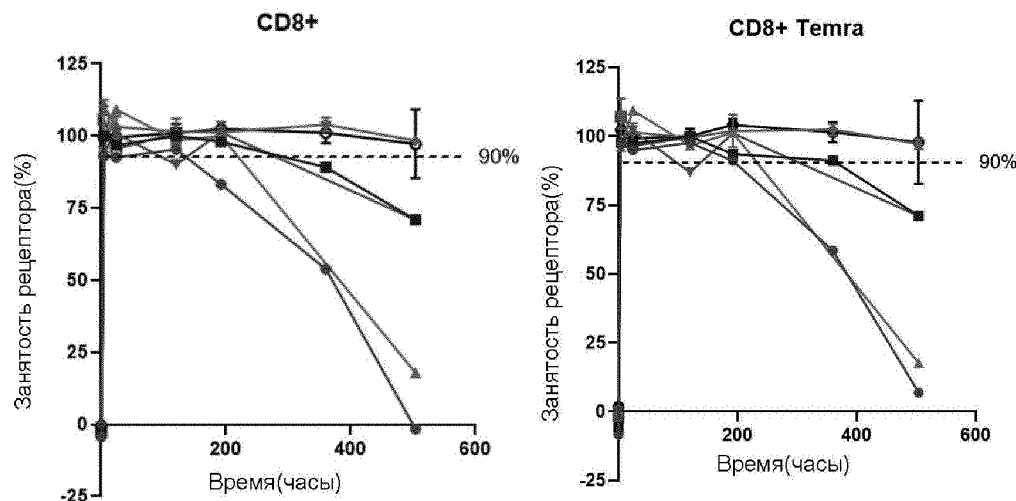
Что	последовательность	SEQ ID NO:
Тяжелая цепь (SEQ ID NO:32 из WO 2017/041004)	QVQLQQSGAELAKPGASVKMSCKASGYTFTSDWMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSTGYTEYNQKFK DKATLTADKSSSTAYMQLRSLTSEDSAVYYCARGSSGSWFAYWGQGTLLTVSA	34
vhCDR1 (SEQ ID NO:34 из WO 2017/041004)	SDWMH	35
vhCDR2 (SEQ ID NO:35 из WO 2017/041004)	YINPSTGYTEYNQKFKD	36
vhCDR3 (SEQ ID NO:36 из WO 2017/041004)	GSSGSWFAY	37
Легкая цепь (SEQ ID NO:40 из WO 2017/041004)	DVVMTQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLNSDGKTYLNWLLQRPGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTG SGSGTDFTLKISRVEAEDLGYYCWQGTHTFPRTFGGGTKLEIK	38
vlCDR1 (SEQ ID NO:41 из WO 2017/041004)	KSSQSLLNSDGKTYLN	39
vlCDR2 (SEQ ID NO:42 из WO 2017/041004)	LVSKLDS	40
vlCDR3 (SEQ ID NO:43 из WO 2017/041004)	WQGTHTFPRT	41

ФИГ. 5D

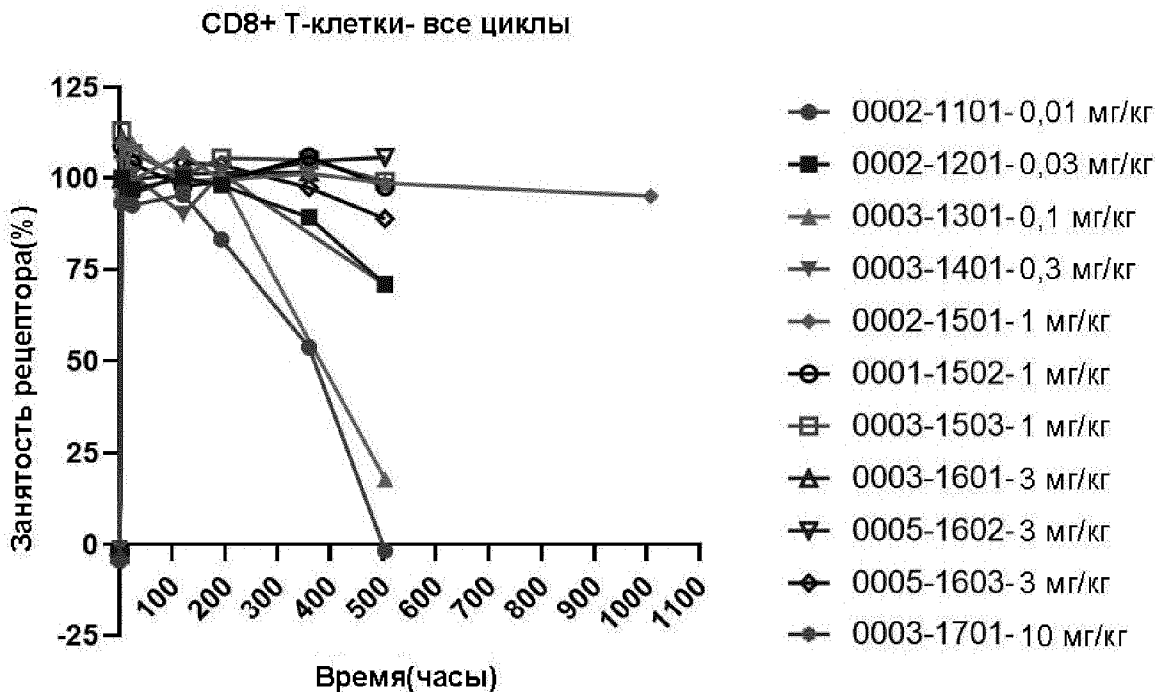
Из WO 2018/017864 (334M5 антитело)

Что	последовательность	SEQ ID NO:
Тяжелая цепь (SEQ ID NO:30 из WO 2018/017864)	EVQLQQSVAELVRPGTSVTISCKASGYFTFTNYWLGWVKQRPBGHGLEWIGDIFPGGDYPNYNEKFKG KATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSSVYFCTRGYFDVWGAGTTVTVSS	42
vhCDR1 (SEQ ID NO:31 из WO 2018/017864)	TNYWLG	43
vhCDR2 (SEQ ID NO:32 из WO 2018/017864)	DIFPGGDYPNYNEKFKG	44
vhCDR3 (SEQ ID NO:33 из WO 2018/017864)	TRGYFDV	45
Легкая цепь (SEQ ID NO:25 из WO 2018/017864)	DIQMTQSPSSLSVSAGEKVTMSCKSSQSLNSENQKNYLAWFQQKPGQPPKMLIYGASTR ESGVDPDRFTGSGSGTDFLTITSSVQAEDLAVYYCQNDHSYPFTFGSGTKLEIKR	46
vlCDR1 (SEQ ID NO:26 из WO 2018/017864)	KSSQSLNSENQKNYLA	47
vlCDR2 (SEQ ID NO:27 из WO 2018/017864)	GASTRES	48
vlCDR3 (SEQ ID NO:28 из WO 2018/017864)	QNDHSYP	49

ФИГ. 6

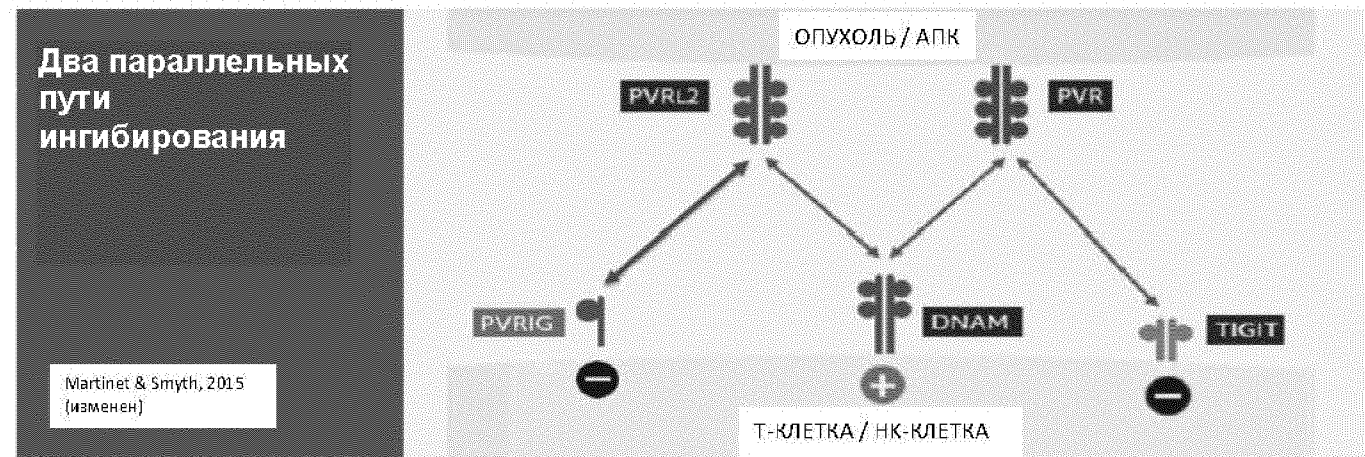


ФИГ. 7



ФИГ. 8

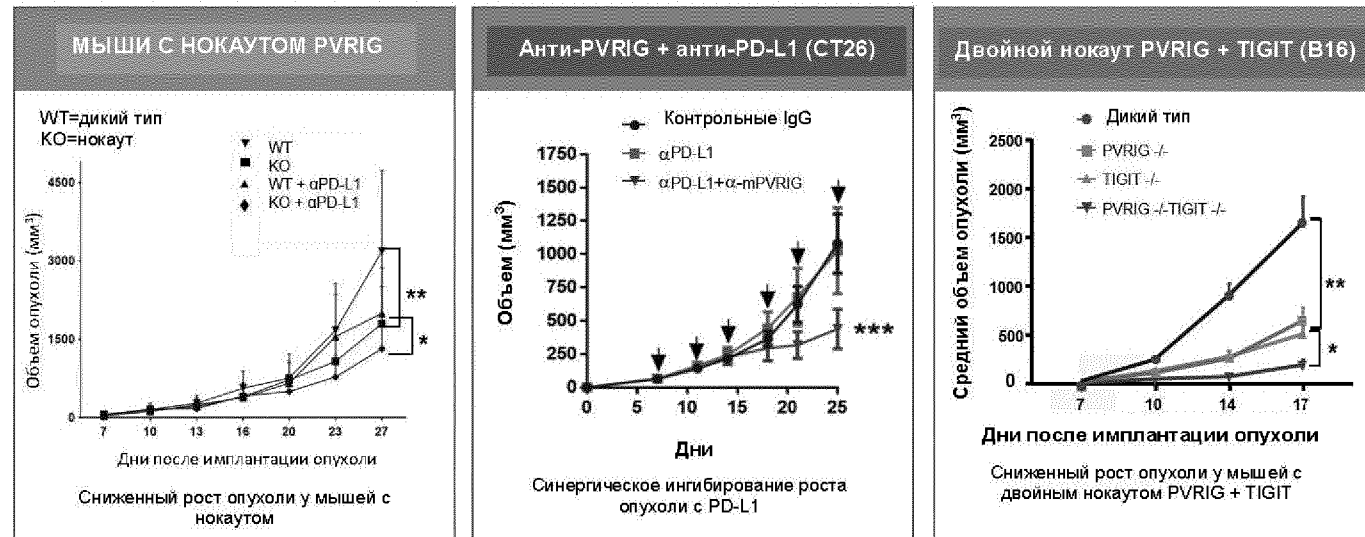
PVRIG представляет собой новую контрольную точку в TIGIT/DNAM-1 AXIS



ФИГ. 9

ИНГИБИРОВАНИЕ PVRIG СНИЖАЕТ РОСТ ОПУХОЛИ В МОДЕЛЯХ РАКА У МЫШЕЙ

НОКАУТ ИЛИ ИНГИБИРОВАНИЕ PVRIG СНИЖАЕТ РОСТ ОПУХОЛИ В КОМБИНАЦИИ С PD-L1 ИЛИ TIGIT В МОДЕЛЯХ У МЫШЕЙ



ФИГ. 10

ФАЗА 1 (Идентификатор: NCT03667716)

Группа А	
Монотерапия Увеличение дозы	Монотерапия Расширение когорты (20 пациентов, с прогрессом заболевания на стандартном лечении)
Все желающие (с прогрессом заболевания на стандартном лечении)	NSCLC, рак яичников, молочной железы, эндометрия, копоректальный рак
Группа В	
Двойная комбинация Увеличение доз CHA.7.518.1.H4(S241P) с фиксированной дозой ниволумаба (до 20 пациентов)	
Все желающие (с прогрессом заболевания на стандартном лечении)	

Цели исследования

- Безопасность и переносимость
- PK/PD
- Клиническая активность –
монотерапия
CHA.7.518.1.H4(S241P) и в
комбинации

Оценка ответа

КТ-визуализация Q6 или Q8 нед в
соответствии с графиком приема
исследуемых препаратов

Ответы на оценку исследователя —
RECIST v1.1

ФИГ. 11

ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТА – ИСХОДНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

		Доза в/в монотерапии СНА.7.518.1.Н4(S241P) (мг/кг) Q3 недель						Итого
		0.01	0.03	0.1	0.3	1	3	10
Возраст								
	≤65 лет	0	1	1	1	3	1	3
	>65 лет	1	0	0	0	0	2	0
Функциональный статус ECOG								
	0				1	2	3	2
	1	1	1	1		1		1
Пол								
	Женский	1	1	1	0	1	2	2
	Мужской				1	2	1	1
Стадия заболевания при включении в исследование		IV	IV	IV	IV	IV*	IV	IV
Тип опухоли при включении в исследование								
	Колоректальный рак	-	-	1	-	2	1	2
	Немелкоклет. рак легкого	1	-	-	-	-	-	-
	Рак поджелуд. железы	-	-	-	1	-	-	-
	Рак яичников	-	-	-	-	-	1	-
	Аденокарциномный рак	-	1	-	-	-	-	-
	Рак с неизвестным первичным происхождением	-	-	-	-	1	-	-
	Рак желчного пузыря	-	-	-	-	-	-	1
	Плевральная мезотелиома	-	-	-	-	-	1	-

*включает пациента с карциномой неизвестного происхождения

ФИГ. 12

ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТА – НАЗНАЧЕНИЕ ЛЕЧЕНИЯ

	Доза в/в монотерапии СНА.7.518.1.H4(S241P) (мг/кг) Q3 недель							Итого
	0.01	0.03	0.1	0.3	1	3	10	
Количество пациентов, включенных и получавших лечение	1	1	1	1	3	3	3	13
Ограничивающая дозу токсичность	0	0	0	0	0	0	0	0
Медианное количество циклов COM701	2	18*	5*	1	2	7	8	5
Медианное количество предшествующего лечения (режим)	7 (5)	2 (2)	7 (3)	3 (1)	10 (3)	7 (5)	6 (2)	7 (3)
Причина прекращения исследуемого лечения								
Побочное явление	-	-	-	-	-	-	-	0
Прогрессирование заболевания согласно RECIST v1.1	1	0	1	0	2	1	-	5
На усмотрение исследователя/клиническое прогрессирование/ухудшение	-	-	-	1	-	2	1	4
Продолжение лечения	-	1	-	-	-	0	1	2

* Пациент с увеличением внутрииндивидуальной дозы

ФИГ. 13

ЧАСТОТА ВОЗНИКШИХ ПОБОЧНЫХ ЯВЛЕНИЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ (≥2 ПАЦИЕНТОВ)

Побочные явления, возникающие при лечении (TEAE, PT), n (%)	Монотерапия СНА.7.518.1.H4(S241P) (N=13)			
	Тяжесть 1-2	Тяжесть 3	Тяжесть 4	Тяжесть 5
Усталость	6 (46)	-	-	-
Тошнота	4 (31)	-	-	-
Рвота	3 (23)	1 (8)	-	-
Прогрессирование заболевания/прогрессирование злокачеств. новообразов.	3 (23)	-	-	3 (23)
Беспокойство	3 (23)	-	-	-
Вздутие живота	2 (15)	-	-	-
Боль в животе	2 (15)	1 (8)	-	-
Запор	2 (15)	-	-	-
Кашель	2 (15)	-	-	-
Одышка	2 (15)	1 (8)	-	-
Лихорадка	2 (15)	-	-	-
Гипотония	2 (15)	-	-	-
Стоматит, воспаление слизистой оболочки	2 (15)	-	-	-
Сыпь	2 (15)	-	-	-

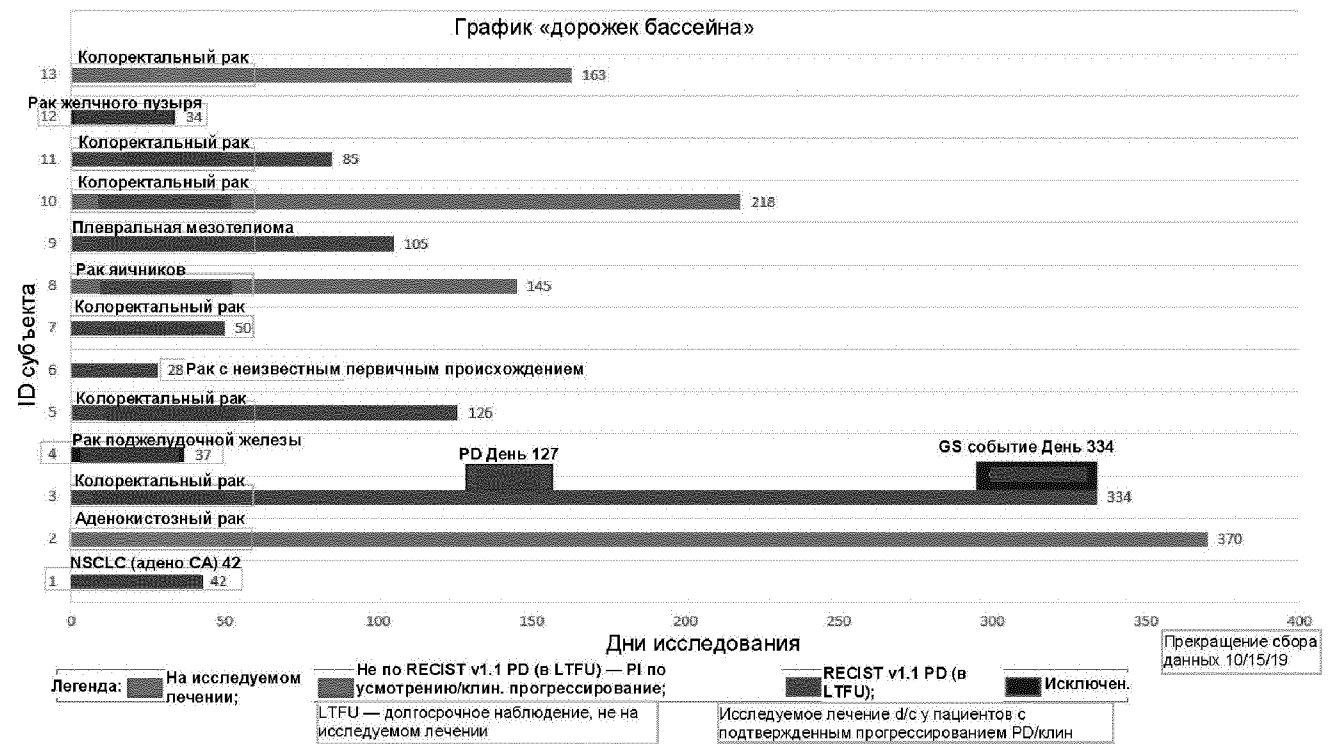
ФИГ. 14

ЧАСТОТА СЕРЬЕЗНЫХ ПОБОЧНЫХ ЯВЛЕНИЙ, СВЯЗАННЫХ С ЛЕЧЕНИЕМ

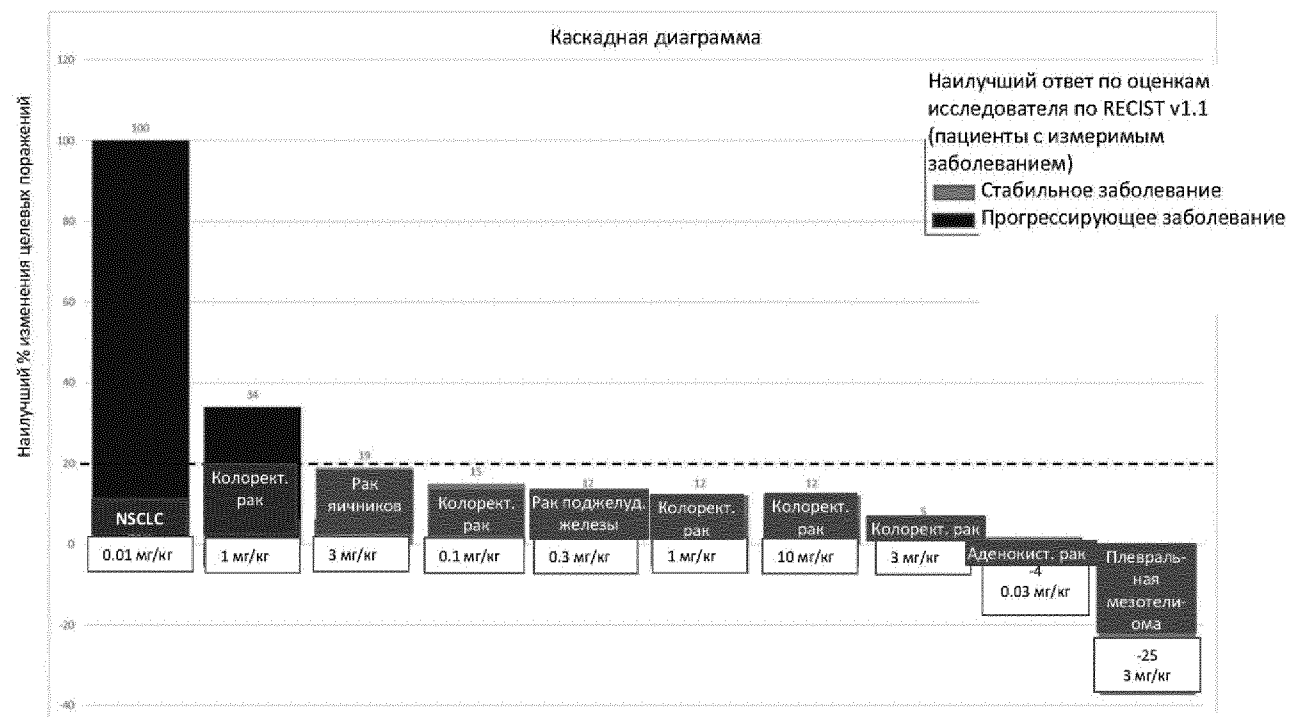
	Монотерапия CHA.7.518.1.H4(S241P) (N=13)	Тяжесть	Связь с CHA.7.518.1.H4(S241P)	Связь с заболеванием
	Любая тяжесть N(%)			
Пациенты с любым серьезным побочным явлением (по РТ)	5 (38)	-	Не связано (3/5 баллов)	Связано у 4/5 пациентов
Прогрессирование злокачеств. новообразов., прогрессирование заболевания	3 (23)	5	Не связано	Связано
Рвота	1 (8)	3	Не связано	Связано
Боль в животе	1 (8)	3	Не связано	Связано
Лихорадка	1 (8)	1	Возможно, связано	Не связано
Мерцательная аритмия	1 (8)	3	Маловероятно, связано	Связано
Повышение билирубина в крови	1 (8)	3	Не связано	Связано

Оценка причинно-следственной связи
на усмотрение исследователя

ФИГ. 15



ФИГ. 16



ФИГ. 17

ПАЦИЕНТЫ СО СТАБИЛЬНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ - ЗАВИСИМОСТЬ ДОЗА-ОТВЕТ

ID СУБЪЕКТА	Доза COM701	Наилучший ответ во время исследования	Подтвержденное стабильное заболевание (Да/Нет)	Тип опухоли	Количество дней приема исследуемого печения до PD или смерти
2	0,03 мг/кг	Стабильное заболевание	Да	Аденокистозный рак	н/о (продолжается исследуемое лечение)
3	0,01 мг/кг	Стабильное заболевание	Да	Колоректальный рак*‡	PD-день 127, (Смерть на день 334)
4	0,3 мг/кг	Стабильное заболевание	Нет	Рак поджелудочной железы	37 (смерть)
5	1 мг/кг	Стабильное заболевание	Да	Колоректальный рак*	126 (в LTFU)
8	3 мг/кг	Стабильное заболевание	Нет	Рак яичников (до приема пембролизумаба)	145 (в LTFU)
9	3 мг/кг	Стабильное заболевание	Нет	Плевральная мезотелиома (до приема дурвалумаба)	105 (в LTFU)
10	3 мг/кг	Стабильное заболевание	Да	Колоректальный рак* (MS-S data после прекращения сбора данных)	218 (в LTFU)
11	10 мг/кг	Стабильное заболевание	Да	Колоректальный рак*‡	85 (в LTFU)
13	10 мг/кг	Стабильное заболевание	Да	Колоректальный рак*‡	н/о (продолжается исследуемое лечение)

*MS-S: микросателлитный стабильный статус; Статус мутации KRAS†

Прекращение сбора данных 10/15/19

Фиг. 18

НАИЛУЧШИЙ ВРЕМЕННОЙ ОТВЕТ НА ЛЕЧЕНИЕ У ПАЦИЕНТОВ С РЕФРАКТОРНЫМ К ПРЕДЫДУЩЕМУ ЛЕЧЕНИЮ ЗАБОЛЕВАНИЕМ

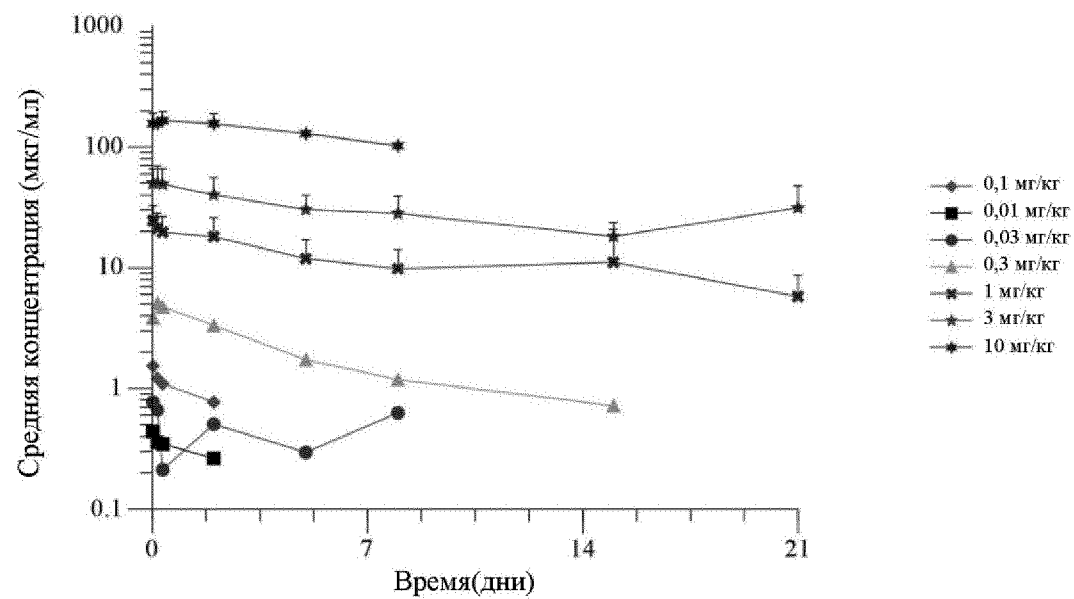
ID СУБЪЕКТА	Тип опухоли	Наилучший ответ на последнюю предшествующую терапию перед включением в исследование	Наилучший временной ответ на исследуемое лечение CHA 7 518 1.H4(S241P)	Подтвержденное SD (Да/Нет)
1	NSCLC	PD	PD	Нет
3	Колоректальный рак	PD	SD	Да
4	Рак поджелуд. железы	PD	SD	Нет
6	Карцинома неизвестного первичного происхождения	PD	PD	Нет
8	Рак яичников	PD	SD	Нет
11	Колоректальный рак	PD	SD	Нет
12	Рак желчного пузыря	PD	Не достигнута оценка 1-й временной точки визуализации	Нет
13	Колоректальный рак	PD	SD	Да

Лучший временной ответ SD у 5/8 пациентов, у которых был наилучший ответ PD на предшествующее лечение (рефрактерное заболевание до лечения)

Dataset: 32015/18

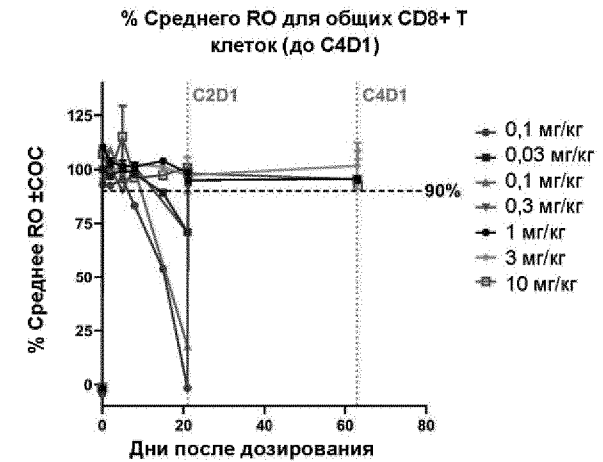
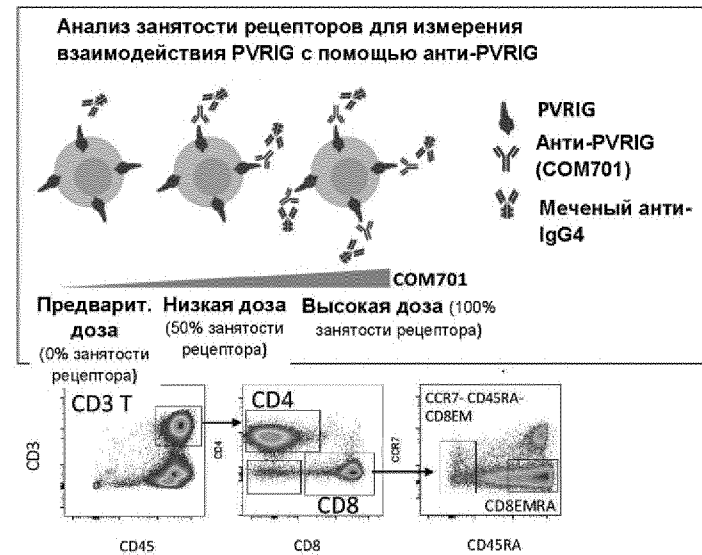
ФИГ. 19

Данные концентрации относительно
временного профиля



Величина предварительного дозирования Цикла 2 была установлена равной
величине в день 21 цикла 1.

ФИГ. 20



- >90% RO при ≥ 1 мг/кг наблюдалось для общих CD3⁺ T клеток и CD8⁺ T_{EMRA}

ИСХОДНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТА

Параметр	Группа А (монотерапия СНА.7.518.1.Н4(S241P)) N=16	Группа В (СНА.7.518.1.Н4(S241P) + ниволумаб) N=12
Пол, ж (n)	9	9
Возраст ≤ 65 лет (n)	13	7
Медиана предшествующих терапий (диапазон)	6 (2, 15)	4 (2, 12)
ECOG (0, 1) 0	8	3
Тип рака на момент начала исследования (n)	CRC (6), PDAC (2), яичник/PPSC (2), NSCLC (1), адено-кистозная карцинома (1), меланома (1), мезотелиома (1), CUP (1), карцинома желчного пузыря (1)	Эндометриальный (3), CRC (2), NSCLC (2), нейроэндокринный, легких (1), анальный плоскоклеточный рак (1), RCC (1), мезотелиома (1), цервикальный (1)

Оцениваемый набор DLT

CRC - колоректальный рак; NSCLC - немелкоклеточный рак легкого; PPSC - первичная перитонеальная серозная карцинома; PDAC - аденокарцинома протоков поджелудочной железы; CUP - карцинома неизвестного происхождения; SCC - плоскоклеточный рак; RCC - почечно-клеточная карцинома.

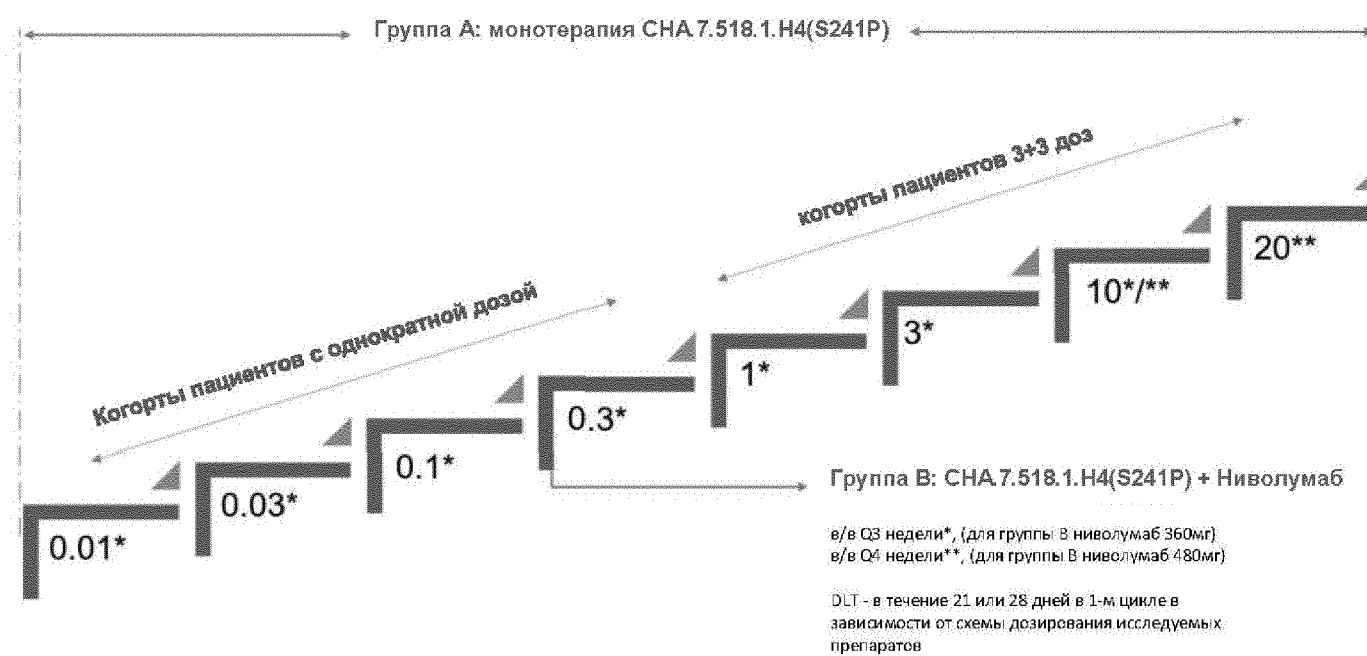
КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ПАЦИЕНТОВ

Параметр	Группа А (монотерапия СНА.7.518.1.Н4(S241P)) N=16	Группа В (СНА.7.518.1.Н4(S241P) + ниволумаб) N=12
Количество DLT	0	0
Количество пациентов, продолжающих исследуемое лечение	2	6
Количество пациентов, получавших лечение по в/в схеме каждые 4 недели (доза)	3 (20 мг/кг) 2	3 (10 мг/кг + ниволумаб 480 мг) 2
Количество продолжающих пациентов		
Причины прекращения исследуемого лечения (n)		
• PD по RECIST v1.1 • Решение врача • Клинический • прогрессирование/ухудшение	10 2 2	5 0 1

Оцениваемый набор DLT

ФИГ. 23

СХЕМА УВЕЛИЧЕНИЯ ДОЗЫ



ОБЗОР ПОБОЧНЫХ ЯВЛЕНИЙ - НАБОР ДЛЯ АНАЛИЗА БЕЗОПАСНОСТИ

Параметр	Группа А	Группа В
Увеличение дозы (Все пациенты)	N= 18 n (%)	N=13 n (%)
Любое TEAE (n, %)	17 (95)	13 (100)
≤G2	10 (56)	7 (54)
G3	6 (33)	5 (38)
G4	-	-
Степень 5	1* (6)	1** (8)
ПЯ, ведущее к прекращению исследуемого лечения	5 (28)	-
Любой SAE (n, %)	7 (39)	5 (39)
≤G2	1 (6)	1 (8)
G3	5 (27)	3 (23)
G4	-	-
Степень 5	1* (6)	1** (8)
СПЯ, ведущее к прекращению исследуемого лечения	5 (28)	-

Набор для анализа безопасности - все субъекты, получившие ≥ 1 любого из исследуемых препаратов

По оценке исследователя, ПЯ/СПЯ, приведшие к прекращению исследуемого лечения, считались связанными с заболеванием.

*Остановка сердца

**Прогрессирующее заболевание

ФИГ. 25

ОБЗОР СЕРЬЕЗНЫХ ПОБОЧНЫХ ЯВЛЕНИЙ, ПРИВЕДШИХ К ПРЕКРАЩЕНИЮ ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕЧЕНИЯ

ID субъекта (группа)	Тип опухоли	Побочное явление	Связанность (по оценке исследователя)
801 (A)	Рак поджелудочной железы	Остановка сердца (G5)	Связанный с заболеванием
4 (A)	Рак поджелудочной железы	Рвота (G3)	Связанный с заболеванием
13 (A)	Колоректальный рак	Легочная эмболия, связанная с прогрессирующим асцитом (оба G3)	Связанный с заболеванием
10 (A)	Колоректальный рак	Ухудшение мерцательной аритмии (G3)	Связанный с заболеванием
12 (A)	Рак желчного пузыря	Прогрессирующее заболевание, связанная с задержкой мочеиспускания (G1), Повышение билирубина в крови (G2), Диарея (G3)	Связанный с заболеванием

Набор для анализа безопасности: — все субъекты, получившие ≥1 дозу любого из исследуемых препаратов.

ФИГ. 26

ЧАСТОТА ВОЗНИКНОВЕНИЯ ПОБОЧНЫХ ЯВЛЕНИЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ (TEAE) У ≥3 ПАЦИЕНТОВ - МОНОТЕРАПИЯ

Предпочтительный признак	Степень 1/2 n (%)	Степень 3/4/5* n (%)	Все степени n (%)
Любое TEAE	10 (56)	7 (39)	17 (95)
Усталость	7 (39)	-	7 (39)
Тошнота	5 (28)	-	5 (28)
Беспокойство	4 (22)	-	4 (22)
Диарея	3 (17)	1 (5)	4 (22)
Одышка	3 (17)	1 (5)	4 (22)
Рвота	3 (17)	1 (5)	4 (22)
Боль в животе	2 (11)	1 (5)	3 (16)
Лихорадка	3 (17)	-	3 (17)

Набор для анализа безопасности — все субъекты, получившие ≥1 дозу любого из исследуемых препаратов.

Нет событий 4 степени*. 1 G 5 SAE (остановка сердца) сообщалось в любом TEAE. Остановка сердца, не связанная с исследуемым препаратом; связанная с прогрессированием заболевания по оценке исследователя.

ФИГ. 27

ЧАСТОТА ВОЗНИКНОВЕНИЯ ТЕАЕ У ≥3 ПАЦИЕНТОВ – КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ

Предпочтительный признак	Степень 1/2 n (%)	Степень 3/4/5* n (%)	Все степени n (%)
Любое ТЕАЕ	7 (54)	6 (46)	13 (100)
Усталость	5 (39)	-	5 (39)
Анемия	3 (23)	1 (7)	4 (31)
Запор	3 (23)	-	3 (23)
Тошнота	2 (15)	1 (8)	3 (23)
Отек периферический	3 (23)	-	3 (23)

Набор для анализа безопасности — все субъекты, получившие ≥1 дозу любого из исследуемых препаратов.

Нет событий 4 степени*. 1G 5 SAE (остановка сердца) сообщалось в любом ТЕАЕ.

Остановка сердца, не связанная с исследуемым препаратом, связанная с прогрессированием заболевания по оценке исследователя.

ЧАСТОТА ВОЗНИКНОВЕНИЯ СЕРЬЕЗНЫХ ТЕАЕ У ВСЕХ ПАЦИЕНТОВ - МОНОТЕРАПИЯ (N = 18)

Предпочтительный признак	Степень 1/2 n (%)	Степень 3/4/5* n (%)	Все степени n (%)
Любое серьезное ТЕАЕ	1 (6)	6 (33)	7 (39)
Асцит*	-	1 (11)	1 (11)
Боль в животе*	-	1 (6)	1 (6)
Мерцательная аритмия*	-	1 (6)	1 (6)
Повышение билирубина в крови*	1 (6)	-	1 (6)
Остановка сердца*	-	1 (6)	1 (6)
Легочная эмболия*+	-	1 (6)	1 (6)
Лихорадка*	1 (6)	-	1 (6)
Сепсис*	-	1 (6)	1 (6)
Рвота*	-	1 (6)	1 (6)

Набор для анализа безопасности — все субъекты, получившие ≥ 1 дозу любого из исследуемых препаратов.

*Считается связанным с заболеванием по оценке исследователя

+Считается возможным связанным с CNA.7.518.1.N4(S241P) по оценке исследователя

#1 G5 событие остановки сердца - считается связанным с заболеванием по оценке исследователя; Нет событий G4

ЧАСТОТА ВОЗНИКНОВЕНИЯ СЕРЬЕЗНЫХ ТЕАЕ У ВСЕХ ПАЦИЕНТОВ - КОМБИНАЦИЯ (N = 13)

Предпочтительный признак	Степень 1/2 n (%)	Степень 3/4/5* n (%)	Все степени n (%)
Любое серьезное ТЕАЕ	1 (8)	4 (31)	5 (39)
Легочная эмболия*	-	2	2 (15)
Гипокалиемия*	-	1 (8)	1 (8)
Прогрессирование злокачественного новообразования*	-	1 (8)	1 (8)
Лихорадка*	1 (8)	-	1 (8)

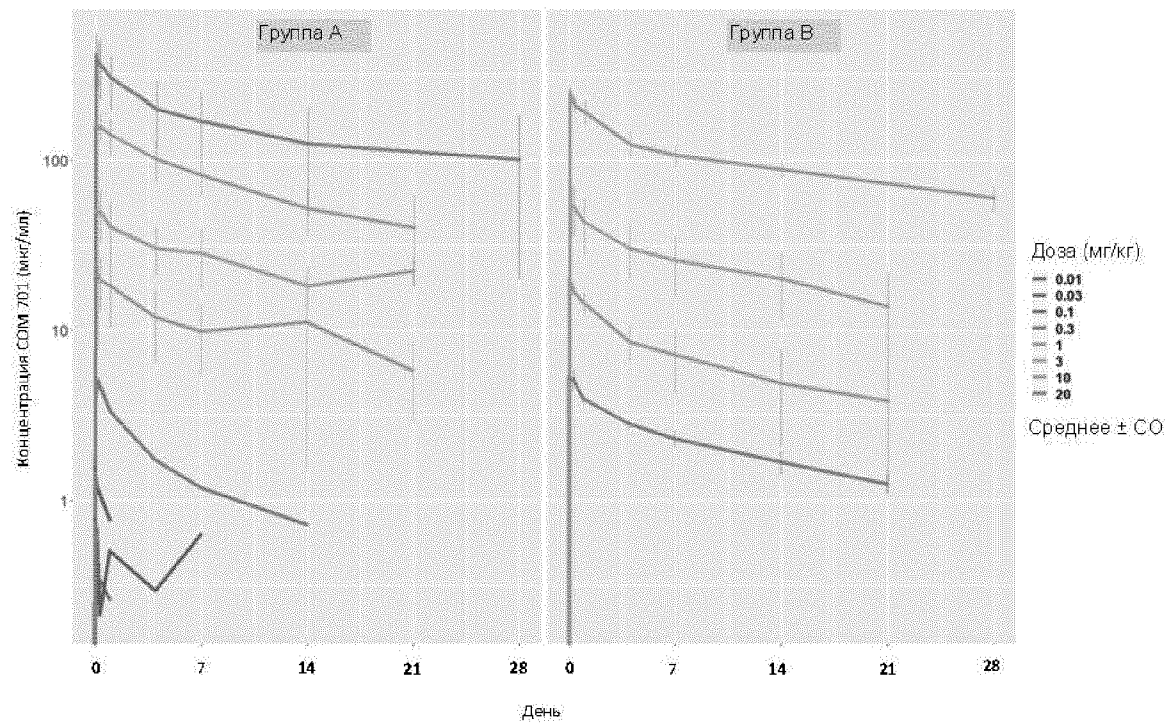
Набор для анализа безопасности — все субъекты, получившие ≥1 дозу любого из исследуемых препаратов.

*Считается связанным с заболеванием по оценке исследователя.

Отсутствие серьезных побочных явлений, связанных с СНА: 7.518.1.H4(S241P) согласно оценке исследователя

ФИГ. 30

ПРОФИЛЬ ФК СНА.7.518.1.Н4(S241P) ПОСЛЕ В/В ИНФУЗИИ В ЦИКЛЕ 1, ДЕНЬ 1 - ГРУППЫ А И В



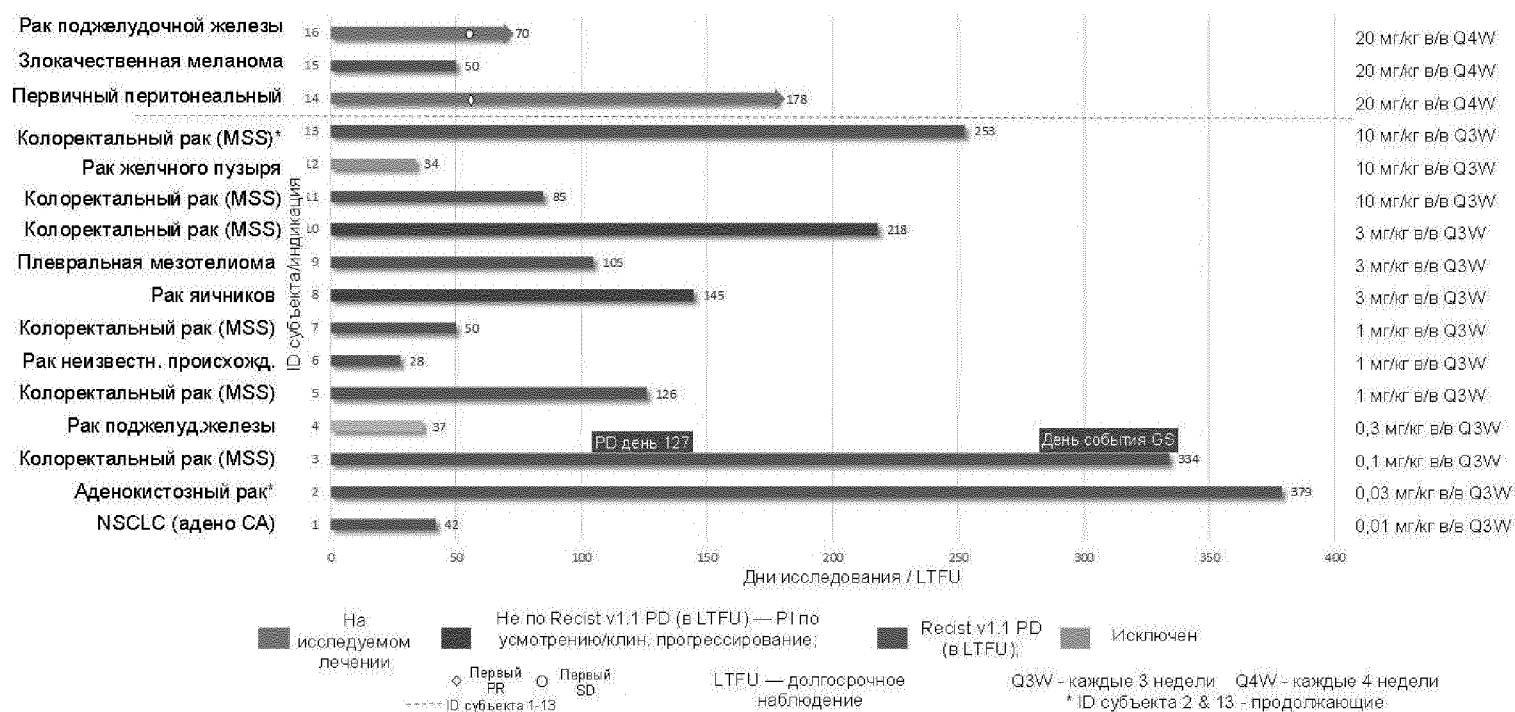
ФИГ. 31

ОБЗОР ОТВЕТА, ОЦЕНИВАЕМОГО ИССЛЕДОВАТЕЛЕМ (согласно RECIST v1.1 DLT-ОЦЕНКА ПОПУЛЯЦИИ)

	Группа А (N = 16) n (%)		Группа В (N = 12) n (%)	
ORR (CR+PR)	1 (6)		1 (8)	
Уровень контроля заболевания (CR+PR+SD)	11 (69)		9 (75)	
Продолжительное SD (SD ≥ 6 месяцев)	2 (13)		4 (33)	
Наилучший ответ				
CR	0		0	0
PR	1	(6)	1	(8)
SD	10	(63)	8	(67)
PD	4	(25)	2	(17)
NA	1	(6)	1	(8.3)

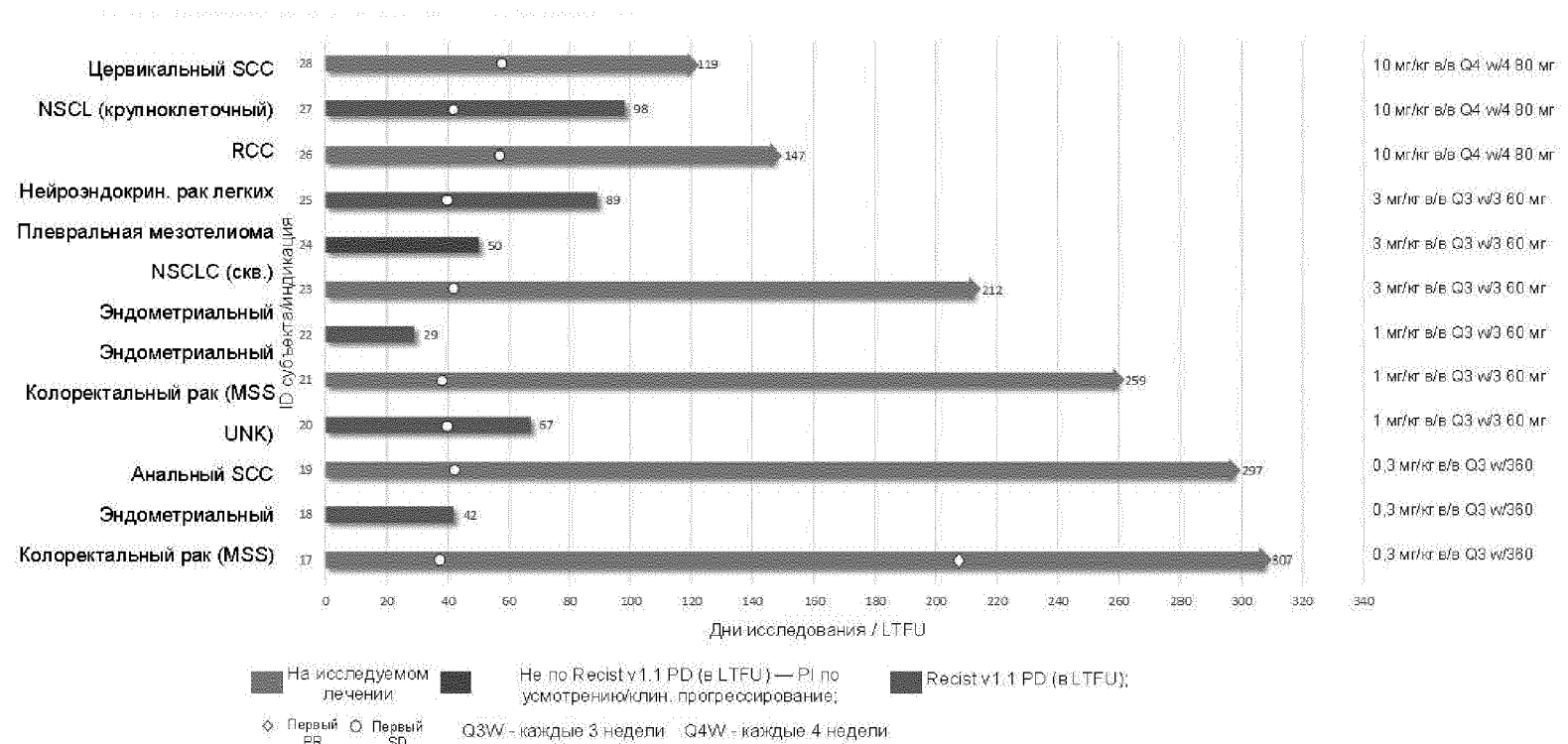
ФИГ. 32А

ГРАФИК «ДОРОЖЕК БАССЕЙНА» - ГРУППА А



ФИГ. 32В

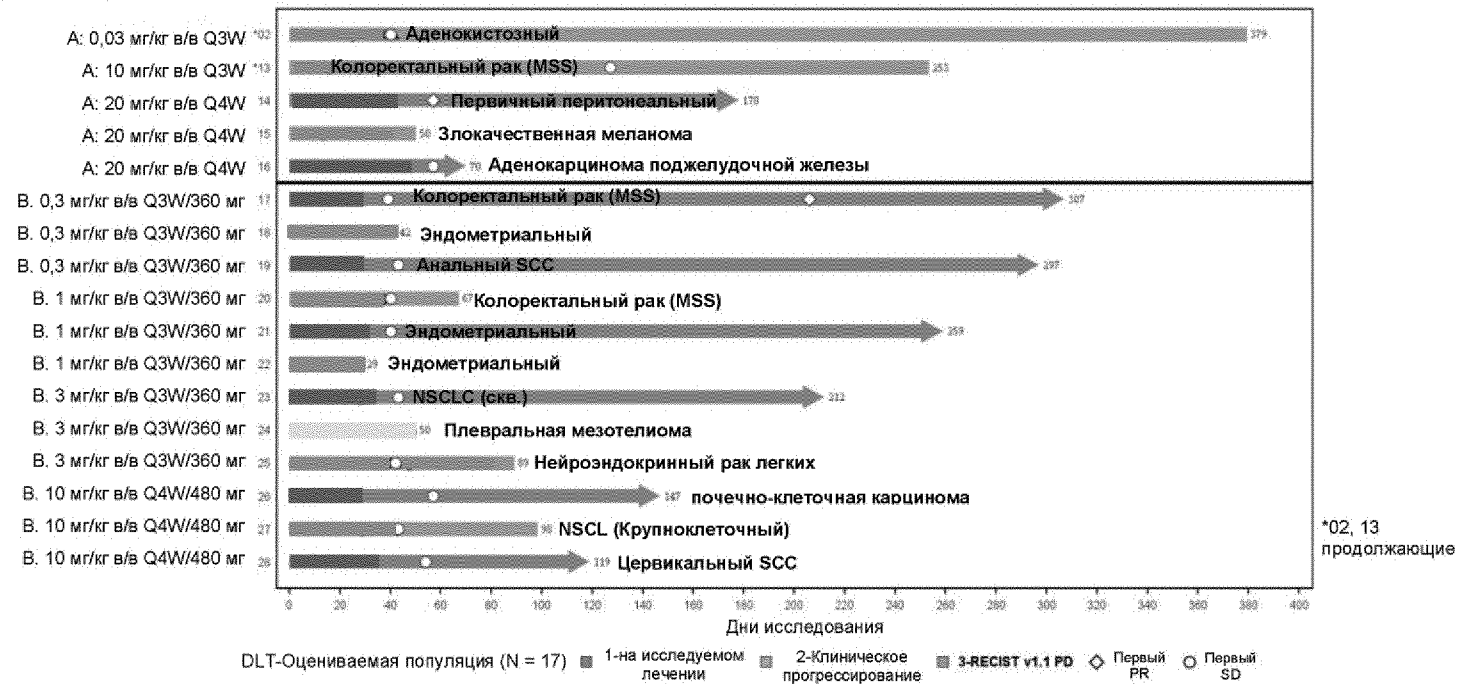
ГРАФИК «ДОРОЖЕК БАСЕЙНА» - ГРУППА В



ФИГ. 32С

ГРАФИК «ДОРОЖЕК БАССЕЙНА»

Группа: Частота дозирования
СНА.7.518.1.H4(S241P)/Доза ниволумаба



ФИГ. 34

СНА.7.518.1.Н4(S241P) + НИВОЛУМАБ-ПОДТВЕРЖДЕННЫЙ PR У ПАЦИЕНТА С MSS КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ (ПРОДОЛЖАЕТСЯ ИССЛЕДУЕМОЕ ЛЕЧЕНИЕ 44 НЕДЕЛИ)

66-летний мужчина с метастатическим колоректальным раком (стабильный MS), с мутацией KRAS s/p 4 предшествующие линии химиотерапии; Наилучший ответ PD на противораковую терапию до включения в исследование

Исследуемое лечение: СНА.7.518.1.Н4(S241P) 0,3 мг/кг + ниволумаб 360 мг; обе в/в Q3 нед.

Целевое поражение 1

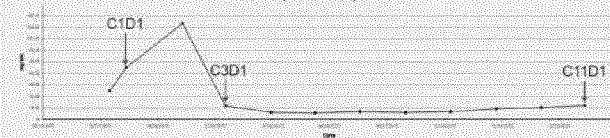


Исходный уровень*
(05/02/2019)

C3D1
(07/08/2019)

C11D1 PR
(12/22/2019)

CEA (Trend All)



Целевое поражение 2

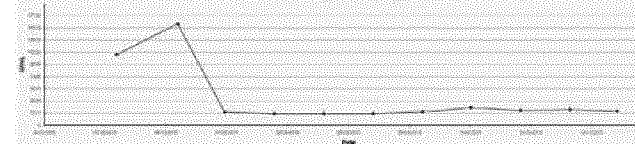


Исходный уровень*
(05/02/2019)

C3D1
(07/08/2019)

C11D1 PR
(12/22/2019)

CA 19-9 (Trend All)



CHA.7.518.1.44(S241P) МОНОТЕРАПИЯ - ПОДТВЕРЖДЕННЫЙ PR У ПАЦИЕНТА С MSS ПЕРВИЧНЫМ ПЕРИТОНЕАЛЬНЫМ РАКОМ, РЕЗИСТЕНТНЫМ К ПЛАТИНЕ, ПРОДОЛЖАЕТСЯ ИССЛЕДУЕМОЕ ЛЕЧЕНИЕ 25 НЕДЕЛЬ

63-летняя женщина с микросателлитным стабильным первичным раком брюшины, резистентным к платине. PDL1 отрицательный, мутация MRE11 s/p 3 предшествующие линии химиотерапии

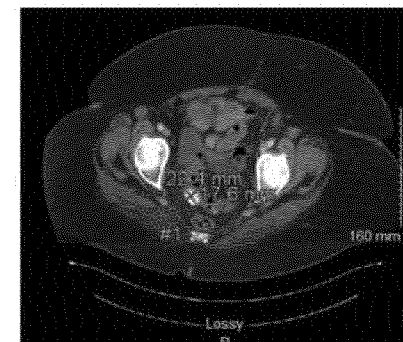
Исследуемое лечение: CHA.7.518.1.H4(S241P) 20 мг/кг в/в Q 4 недели



Исходный уровень: 9/11/19



C2D28: 12/2/19 (PR)



C6D28: 3/23/20 (PR)