

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202291777 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.12.30

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

(22) Дата подачи заявки
2020.12.09

(54) КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ LIV1-ADC И АНТАГОНИСТОМ PD-1

(31) 62/945,885; 63/031,528; 63/076,664;
63/110,692

(32) 2019.12.09; 2020.05.28; 2020.09.10;
2020.11.06

(33) US

(86) PCT/US2020/063976

(87) WO 2021/119105 2021.06.17

(71) Заявитель:
СИДЖЕН ИНК. (US); МЕРК ШАРП
И ДОУМ Б.В. (NL)

(72) Изобретатель:
Ван Цзэцзин, Чунг Николас, Сассман
Джанго (US)

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

(57) Настоящее изобретение в целом относится к способам лечения рака, экспрессирующего LIV-1, включающим введение конъюгата анти-LIV-1 антитело-лекарственное средство (LIV-1-ADC) в комбинации с антагонистом PD-1, таким как антитело против PD-1.

A1

202291777

202291777

A1

**КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ LIV1-ADC И АНТАГОНИСТОМ PD-1
ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ**

[1] Настоящая заявка испрашивает приоритет согласно предварительной заявке на патент США № 62/945885, поданной 9 декабря 2019 г., предварительной заявке на патент США № 63/031528, поданной 28 мая 2020 г., предварительной заявке на патент США № 63/076664, поданной 10 сентября 2020 г., и предварительной заявке на патент США № 63/110692, поданной 6 ноября 2020 г., которые полностью включены в настоящий документ посредством ссылки.

ВКЛЮЧЕНИЕ МАТЕРИАЛА, ПРЕДСТАВЛЕННОГО В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ, ПОСРЕДСТВОМ ССЫЛКИ

[2] Перечень последовательностей, являющийся частью настоящего раскрытия, представлен одновременно с описанием в виде текстового файла. Текстовый файл, содержащий перечень последовательностей, назван «55109_Seqlisting.txt», был создан 7 декабря 2020 г. и имеет размер 31,310 байтов. Предмет перечня последовательностей полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[3] Настоящее раскрытие относится, в общем, к способам лечения рака, включающим введение LIV-1-ADC и антагониста PD-1, такого как антитело против PD-1.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[4] LIV-1 является членом подсемейства LZT (LIV-1-ZIP Zinc Transporters) белков-переносчиков цинка. Taylor et al., Biochim. Biophys. Acta 1611:16-30 (2003). Компьютерный анализ белка LIV-1 выявил потенциальный металлопротеазный мотив, соответствующий консенсусной последовательности мотива каталитического сайта связывания цинка цинк-зависимой металлопротеазы. мРНК LIV-1 в основном экспрессируется в тканях молочной железы, предстательной железы, гипофиза и головного мозга.

[5] Белок LIV-1 также вовлечен в некоторые раковые состояния, например, рак молочной железы и рак предстательной железы. Обнаружение LIV-1 связано с раком молочной железы, положительным по рецептору эстрогена, McClelland et al., Br. J. Cancer 77:1653-1656 (1998), и метастатическим распространением этих видов рака в регионарные лимфатические узлы. Manning et al., Eur. J. Cancer 30A:675-678 (1994).

[6] SGN-LIV1A представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), направленный на LIV-1, состоящий из трех компонентов: 1) гуманизированного антитела hLIV22, специфичного в отношении LIV-1 человека, 2) агента, разрушающего микротрубочки, монометилауристатина E (MMAE) и 3) стабильного линкера, валин-цитруллина (vc), ковалентно присоединяющего MMAE к hLIV22. Предлагаемый механизм действия (МОА) имитируется связыванием SGN-LIV1A с LIV-1 на поверхности клетки с последующей интернализацией ADC. При переносе в лизосомы доставленное

лекарственное средство (MMAE) высвобождается посредством протеолитической деградации линкера *vs.* Связывание высвобожденного лекарственного средства с тубулином разрушает сеть микротрубочек, что приводит к остановке клеточного цикла и апоптозу. SGN-LIV1A также известен как ладиратузумаб ведотин (LV). Лечение ладиратузумабом ведотином связано с остановкой митозов, инфильтрацией макрофагов и усилением передачи сигналов цитокинов (Specht et al., *Ann Oncol.* 2018; 29(Suppl 8):viii92).

[7] Было показано, что SGN-LIV1A уменьшает объемы опухоли *in vivo*, и в настоящее время он проходит клиническое испытание фазы 1 для пациентов с LIV-1-положительным метастатическим раком молочной железы. Доклинические отчеты продемонстрировали, что лечение монотерапией LV индуцирует иммуногенную гибель клеток (ICD) (Schmid et al., *N Engl J Med.* 2018; 379(22): 2108-21).

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[8] В настоящем изобретении предложены способы лечения рака, в частности рака молочной железы, включающие введение конъюгата антитела против LIV1 с лекарственным средством в комбинации с антагонистом PD-1 для лечения рака, например рака, экспрессирующего LIV-1, или белка контрольной точки.

[9] В различных вариантах реализации настоящего изобретения предложен способ лечения субъекта, страдающего от рака или подверженного риску развития рака, включающий введение субъекту конъюгата антитела LIV-1 с лекарственным средством (LIV-1-ADC) и антагониста PD-1, выбранного из группы, состоящей из антитела против PD-1 или антитела против PD-L1.

[10] В различных вариантах реализации субъект имеет рак молочной железы. В одном варианте реализации рак молочной железы представляет собой трижды негативный рак молочной железы, трижды положительный рак молочной железы, HER2-положительный рак молочной железы или гормон-рецептор-положительный рак. В одном варианте реализации субъект имеет трижды негативный рак молочной железы. В различных вариантах реализации субъект имеет нерезектабельный местно-распространенный или метастатический (LA/M) трижды негативный рак молочной железы (TNBC).

[11] В различных вариантах реализации настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску заболевания трижды негативным раком молочной железы, причем способ включает введение субъекту конъюгата антитела LIV-1 с лекарственным средством (LIV-1-ADC) и антагониста PD-1, где антагонист PD-1 представляет собой антитело против PD-1 или антитело против PD-L1.

[12] Кроме того, рассматривается способ лечения субъекта с метастатическим трижды негативным раком молочной железы *de novo*, включающий введение субъекту конъюгата антитела LIV-1 с лекарственным средством (LIV-1-ADC) и антагониста PD-1, где антагонист PD-1 представляет собой антитело против PD-1 или антитело против PD-

L1.

[13] В различных вариантах реализации субъект имеет рак предстательной железы, рак яичников, рак эндометрия, рак поджелудочной железы, рак легких, рак шейки матки, меланому или плоскоклеточную карциному.

[14] В различных вариантах реализации субъект ранее не получал цитотоксическую терапию.

[15] В различных вариантах реализации LIV-1-ADC вводят в дозе от 1,0 мг/кг до 4 мг/кг массы тела субъекта. В одном варианте реализации LIV-1-ADC вводят в дозе 1,0 мг/кг массы тела субъекта. В одном варианте реализации LIV-1-ADC вводят в дозе 1,25 мг/кг массы тела субъекта. В одном варианте реализации LIV-1-ADC вводят в дозе 1,5 мг/кг массы тела субъекта. В одном варианте реализации LIV-1-ADC вводят в дозе 1,75 мг/кг массы тела субъекта. В одном варианте реализации LIV-1-ADC вводят в дозе 2,0 мг/кг массы тела субъекта. В одном варианте реализации LIV-1-ADC вводят в дозе 2,5 мг/кг массы тела субъекта.

[16] В различных вариантах реализации LIV-1-ADC вводят один раз в неделю. В различных вариантах реализации LIV-1-ADC вводят один раз в 3 недели. В различных вариантах реализации LIV-1-ADC вводят путем внутривенной инъекции. В различных вариантах реализации LIV-1-ADC вводят путем внутривенной инфузии. В различных вариантах реализации терапию антагонистами LIV1-ADC и PD-1 проводят в течение по меньшей мере 3 циклов и до 6, 8 или 10 циклов, например, от 3 до 6 циклов, или от 3 до 8 циклов, или в течение 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 циклов. В различных вариантах реализации цикл представляет собой трехнедельный цикл.

[17] В различных вариантах реализации антагонист PD-1 представляет собой антитело против PD-1, выбранное из группы, состоящей из пембролизумаба или ниволумаба. В одном варианте реализации антагонист PD-1 представляет собой антитело против PD-1 пембролизумаб. В различных вариантах реализации пембролизумаб вводят в дозе от 100 до 300 мг, например, один раз в три недели.

[18] В различных вариантах реализации антагонист PD-1 вводят путем внутривенной инфузии. В различных вариантах реализации антитело против PD-1 вводят каждые три недели путем внутривенной инфузии.

[19] В различных вариантах реализации антитело против LIV-1 в составе LIV-1-ADC представляет собой моноклональное антитело против LIV-1. В различных вариантах реализации антитело против LIV-1 в составе LIV-1-ADC содержит гуманизированное антитело hLIV22.

[20] В различных вариантах реализации антитело против LIV-1 в составе LIV-1-ADC содержит i) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи антитела hLIV22 и ii) CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи антитела hLIV22.

[21] В различных вариантах реализации антитело против LIV-1 в составе LIV-1-ADC содержит i) аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную вариабельной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 4, и ii)

аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную вариабельной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 3. В различных вариантах реализации антитело против LIV-1 в составе LIV-1-ADC содержит i) аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную вариабельной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 4, и ii) аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную вариабельной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 3. В различных вариантах реализации антитело против LIV-1 в составе LIV-1-ADC содержит i) аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную вариабельной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 4, и ii) аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную вариабельной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 3. В различных вариантах реализации антитело против LIV-1 в составе LIV-1-ADC содержит i) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи, указанную в SEQ ID NO: 4, и ii) аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи, указанную в SEQ ID NO: 3. Предполагается, что варианты антител с вариабельной областью сохраняют последовательности CDR тяжелой и легкой цепей родительского антитела.

[22] В различных вариантах реализации конъюгат антитело-лекарственное средство содержит монометилауристатин Е и расщепляемый протеазой линкер. В различных вариантах реализации расщепляемый протеазой линкер состоит из тиол-реакционноспособного спейсера и дипептида. В различных вариантах реализации расщепляемый протеазой линкер состоит из тиол-реакционноспособного малеимидакапроильного спейсера, дипептида валин-цитруллин и п-аминобензилоксикарбонильного спейсера.

[23] В различных вариантах реализации LIV-1-ADC представляет собой ладиратузумаб ведотин.

[24] В различных вариантах реализации (i) антитело против PD-1 перекрестно конкурирует с ниволумабом или пембролизумабом за связывание с PD-1 человека; (ii) антитело против PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб или пембролизумаб; (iii) антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб; или (iv) антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб.

[25] В различных вариантах реализации (i) антитело против PD-1 перекрестно конкурирует с ниволумабом или пембролизумабом за связывание с PD-1 человека; (ii) антитело против PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб или пембролизумаб; (iii) антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб; или (iv) антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб; или (v) антитело против PD-1 представляет собой вариант пембролизумаба.

[26] В некоторых вариантах реализации антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб или ниволумаб.

[27] В одном варианте реализации антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб. В различных вариантах реализации антитело против PD-1 представляет

собой пембролизумаб, и его вводят в дозе от 100 до 300 мг каждые три недели. В одном варианте реализации пембролизумаб вводят в дозе 200 мг каждые три недели.

[28] В различных вариантах реализации LIV1-ADC вводят путем внутривенной инфузии в течение примерно 30 минут. В различных вариантах реализации антагонист PD-1, например антитело против PD-1, вводят путем внутривенной инфузии в течение приблизительно 30 минут или приблизительно 60 минут.

[29] В различных вариантах реализации рак включает одну или более клеток, которые экспрессируют PD-L1, PD-L2 или как PD-L1, так и PD-L2. В различных вариантах реализации уровень экспрессии PD-L1 в опухоли составляет по меньшей мере примерно 1%, по меньшей мере примерно 2%, по меньшей мере примерно 3%, по меньшей мере примерно 4%, по меньшей мере примерно 5%, по меньшей мере примерно 6%, по меньшей мере примерно 7%, по меньшей мере примерно 8%, по меньшей мере примерно 9%, по меньшей мере примерно 10%, по меньшей мере примерно 11%, по меньшей мере примерно 12%, по меньшей мере примерно 13%, по меньшей мере примерно 14%, по меньшей мере примерно 15%, по меньшей мере примерно 20%, по меньшей мере примерно 25%, по меньшей мере примерно 30%, по меньшей мере примерно 40%, по меньшей мере примерно 50%, по меньшей мере примерно 60%, по меньшей мере примерно 70%, по меньшей мере примерно 75%, по меньшей мере примерно 80%, по меньшей мере примерно 85%, по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 95% или примерно 100%.

[30] В различных вариантах реализации по меньшей мере примерно 0,01%, по меньшей мере примерно 0,1%, по меньшей мере примерно 1%, по меньшей мере примерно 2%, по меньшей мере примерно 3%, по меньшей мере примерно 4%, по меньшей мере примерно 5%, по меньшей мере примерно 6%, по меньшей мере примерно 7%, по меньшей мере примерно 8%, по меньшей мере примерно 9%, по меньшей мере примерно 10%, по меньшей мере примерно 15%, по меньшей мере примерно 20%, по меньшей мере примерно 25%, по меньшей мере примерно 30%, по меньшей мере примерно 35%, по меньшей мере примерно 40%, по меньшей мере примерно 45%, по меньшей мере примерно 50%, по меньшей мере примерно 55%, по меньшей мере примерно 60%, по меньшей мере примерно 65%, по меньшей мере примерно 70%, по меньшей мере примерно 75%, по меньшей мере примерно 80%, по меньшей мере примерно 85%, по меньшей мере примерно 90% или по меньшей мере примерно 95% опухолевых клеток экспрессируют LIV-1.

[31] В различных вариантах реализации экспрессию LIV-1 измеряют с помощью анализа, утвержденного FDA.

[32] В различных вариантах реализации LIV-1-ADC представляет собой ладиратузумаб ведотин, и его вводят в дозе 2,5 мг/кг, а антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб, и его вводят в дозе 1-2 мг/кг или 100-300 мг один раз в три недели. В одном варианте реализации пембролизумаб вводят в дозе 200 мг каждые три недели. В другом варианте реализации пембролизумаб вводят в дозе 400 мг каждые

шесть недель.

[33] В различных вариантах реализации LIV-1-ADC представляет собой ладиратузумаб ведотин, и его вводят в дозе 2,0 мг/кг, а антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб, и его вводят в дозе 1-2 мг/кг или 100-300 мг один раз в три недели. В одном варианте реализации пембролизумаб вводят в дозе 200 мг один раз в три недели. В другом варианте реализации пембролизумаб вводят в дозе 400 мг каждые шесть недель.

[34] В различных вариантах реализации LIV-1-ADC представляет собой ладиратузумаб ведотин, и его вводят в дозе 1,0 мг/кг, а антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб, и его вводят в дозе 1-2 мг/кг или 100-300 мг один раз в три недели. В одном варианте реализации пембролизумаб вводят в дозе 200 мг один раз в три недели. В другом варианте реализации пембролизумаб вводят в дозе 400 мг каждые шесть недель.

[35] В различных вариантах реализации LIV-1-ADC представляет собой ладиратузумаб ведотин, и его вводят в дозе 1,25 мг/кг, а антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб, и его вводят в дозе 1-2 мг/кг или 100-300 мг один раз в три недели. В одном варианте реализации пембролизумаб вводят в дозе 200 мг один раз в три недели. В другом варианте реализации пембролизумаб вводят в дозе 400 мг каждые шесть недель.

[36] В различных вариантах реализации ADC LIV-1 вводят каждые три недели при введении в комбинации с антагонистом PD-1, таким как антитело против PD-1.

[37] В различных вариантах реализации ADC LIV-1 вводят один раз в неделю при введении в комбинации с антагонистом PD-1, таким как антитело против PD-1.

[38] В различных вариантах реализации LIV-1 ADC вводят в дни 1, 8 и 15 трехнедельного цикла, а пембролизумаб вводят в день 1 каждого трехнедельного цикла. В различных вариантах реализации LIV-1 ADC вводят в дозе 1,0 мг/кг или 1,25 мг/кг в дни 1, 8 и 15 трехнедельного цикла, а пембролизумаб вводят в дозе 200 мг в день 1 каждого трехнедельного цикла. В одном варианте реализации LIV-1-ADC вводят в дозе 1,75 мг/кг в дни 1, 8 и 15 трехнедельного цикла, и необязательно пембролизумаб вводят в дозе 200 мг в день 1 каждого трехнедельного цикла.

[39] Также предложен способ лечения солидной опухоли, которая имеет метастазы или подвержена риску метастазирования, включающий введение субъекту конъюгата LIV-1 антитело-лекарственное средство (LIV-1-ADC), где LIV-1-ADC вводят в дозировке от 1,0 мг/кг до 4 мг/кг массы тела субъекта. В различных вариантах реализации LIV-1-ADC вводят в дозе 1,0 мг/кг массы тела субъекта или в дозе 1,25 мг/кг массы тела субъекта.

[40] В различных вариантах реализации солидная опухоль выбрана из группы, состоящей из немелкоклеточной карциномы легкого (NSCLC) (плоскоклеточной и неплоскоклеточной), мелкоклеточного рака легкого, аденокарциномы желудка/пищеводно-желудочного перехода (GEJ), плоскоклеточной карциномы пищевода и плоскоклеточной карциномы головы и шеи.

[41] Кроме того, в настоящем документе рассматривается способ лечения солидной опухоли, выбранной из группы, состоящей из немелкоклеточной карциномы легкого (NSCLC) (плоскоклеточной и неплоскоклеточной), мелкоклеточного рака легкого, аденокарциномы желудка/пищеводно-желудочного перехода (GEJ), плоскоклеточной карциномы пищевода и плоскоклеточной карциномы головы и шеи, включающий введение субъекту конъюгата LIV-1 антитело-лекарственное средство (LIV-1-ADC).

[42] В различных вариантах реализации LIV-1-ADC вводят в дозе от 1,0 мг/кг до 4 мг/кг массы тела субъекта. В различных вариантах реализации LIV-1-ADC вводят в дозе 1,0 мг/кг массы тела субъекта или в дозе 1,25 мг/кг массы тела субъекта.

[43] В различных вариантах реализации LIV-1-ADC вводят в дозе от 2,0 до 2,5 мг/кг массы тела субъекта.

[44] В различных вариантах реализации LIV-1-ADC вводят один раз в неделю или каждые три недели.

[45] Согласно различным вариантам реализации субъект представляет собой взрослого пациента.

[46] В различных вариантах реализации лечение LIV-1-ADC и антагонистом PD-1 повышает уровень CD8⁺ Т-клеток, дендритных клеток и/или макрофагов в опухоли и/или микроокружении опухоли. В различных вариантах реализации лечение LIV-1-ADC и антагонистом PD-1 повышает уровень макрофагов в опухоли и/или микроокружении опухоли. В различных вариантах реализации лечение LIV-1-ADC и антагонистом PD-1 повышает уровень CD8⁺ Т-клеток в опухоли и/или микроокружении опухоли. В различных вариантах реализации лечение LIV-1-ADC и антагонистом PD-1 увеличивает уровень дендритных клеток в опухоли и/или микроокружении опухоли. В различных вариантах реализации антагонист PD-1 представляет собой антитело против PD-1 или антитело против PD-L1.

[47] В различных вариантах реализации лечение LIV-1-ADC и антагонистом PD-1 увеличивает экспрессию генов активации иммунитета, например, в опухоли или в большем или большем количестве клеток опухоли. Гены активации иммунитета включают гены, связанные с иммунными клетками, такими как CD4⁺ Т-клетки, CD8⁺ Т-клетки, макрофаги и дендритные клетки. В различных вариантах реализации ген активации иммунитета представляет собой ген MHC, ген цитокина, ген хемокина, ген лектина, SIGLEC1, MS4A4A, CD163, CXCL12, IL-18 и/или APOE. В различных вариантах реализации гены активации иммунитета представляют собой HLA-DMA, HLA-DOA и IL-18.

[48] В настоящем документе особо предусмотрено, что все аспекты настоящего изобретения, описанные выше по отношению к способам лечения, применимы к комбинированной терапии конъюгатом "антитело против LIV-1-лекарственное средство" для применения по любому из показаний, описанных выше.

[49] Следует понимать, что каждый признак или вариант реализации, или комбинация, описанные в настоящем документе, являются неограничивающим

иллюстративным примером любого из аспектов настоящего изобретения и, как таковые, предназначены для комбинирования с любым другим признаком, вариантом реализации или комбинацией, описанными в настоящем документе. Например, если признаки описаны с помощью таких формулировок, как «один вариант реализации», «некоторые варианты реализации», «определенные варианты реализации», «дополнительный вариант реализации», «конкретные иллюстративные варианты реализации» и/или «другой вариант реализации», каждый из этих типов вариантов реализации представляет собой неограничивающий пример признака, который предназначен для комбинирования с любым другим признаком или комбинацией признаков, описанных в настоящем документе, без необходимости перечисления каждой возможной комбинации. Такие признаки или комбинации признаков применимы к любому из аспектов изобретения. Когда описываются примеры значений, попадающих в пределы диапазона, любой из этих примеров рассматривается в качестве возможных конечных точек диапазона, рассматриваются любые и все числовые значения между такими конечными точками и рассматриваются любые и все комбинации верхних и нижних конечных точек.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[50] На Фигуре 1 показано максимальное изменение опухолевой массы у получавших лечение пациентов, измеренное в виде % изменения по сравнению с исходным уровнем.

[51] На Фигуре 2 показано изменение опухолевой массы с течением времени (% изменения по сравнению с исходным уровнем).

[52] На Фигурах 3А и 3В показана эффективность лечения посредством LIV1-ADC+пембролизумаб у субъектов, ранее получавших терапию (Фигура 3А, предшествующая (нео) адъювантная терапия), по сравнению с пациентами *de novo* (Фигура 3В), которые ранее не получали лечения.

[53] Фигура 4 представляет собой вулканическую диаграмму, показывающую дифференциально экспрессируемые гены в опухолевой ткани, индуцированные монотерапией LV.

[54] На Фигурах 5А-5С показано увеличение инфильтрации макрофагов и экспрессии PD-L1, а также индукция МНС и костимулирующих молекул при монотерапии LV. Фигура 5А: сводные графики, показывающие результаты ИНС CD68 (% клеток, положительных для CD68 в строме опухоли), $p=9,1e-07$. Фигура 5В: баллы CPS PD-L1 у всех пациентов LVA-001 с образцами, подлежащими оценке ($N=79$ для CD68; $N=73$ для PD-L1), $p=0,0068$. Фигура 5С: Сводные графики, показывающие индукцию генов МНСII (HLA-DRB1 (FDR=3,76e-5) и HLA-DQA1 (FDR=0,005)) и костимулирующих молекул (CD80 (FDR=0,002) и CD86 (FDR=1,69e-6)) в опухолевых тканях с помощью анализа RNAseq.

[55] Фигура 6 представляет собой вулканическую диаграмму, показывающую дифференциально экспрессируемые гены в опухолевой ткани, индуцированные LV с пембролизумабом.

[56] На Фигуре 7 показано сравнение результатов анализа xCell (RNAseq) инфильтрирующих опухоль иммунных клеток (макрофагов, DC и CD8 Т-клеток) и экспрессии гена CD274 (PD-L1) в LVA-001 (только LV) и LVA-002 (LV+пембролизумаб). Р-значения для сигнатур генов xCell рассчитывали с использованием парного t-критерия. Для PD-L1 FDR получен из анализа дифференциальной экспрессии, сравнивающего C1D5/C1D15 и исходный уровень. N=59 для LVA-001; N=16 для LVA-002.

[57] На Фигурах 8A-8B показано сравнение ИHC-анализа инфильтрирующих опухоль иммунных клеток (CD3+ Т-клеток и CD68+ макрофагов) (Фигура 8A) и CD8+ Т-клеток и окрашивания CD274 (PD-L1 CPS) (Фигура 8B) в LVA-001 и LVA-002. Р-величины были рассчитаны по сумме критериев Уилкоксона для связанных выборок с использованием схемы перестановки «монет» в R9. Биопсии во время лечения были собраны вокруг C1D5 в LVA-001 и вокруг C1D5 или C1D15 в LVA-002.

[58] На Фигуре 9 показан анализ сигнатуры генов xCell данных RNAseq, который показал, что индукция генов, связанных с CD4 Т-клетками (особенно эффекторными CD4 Т-клетками памяти) и обычными DC (сDC), связана с клиническими ответами. Р-значения были рассчитаны с использованием теста отношения правдоподобия двух вложенных линейных моделей.

[59] На Фигуре 10 показано, что индукция генов MHC I (HLA-DMA и HLA-DOA) и IL-18 связана с клиническими ответами. FDR рассчитывают с помощью поправки Бенджамини-Хохберга множественного тестирования для р-величин, сгенерированных тестом отношения правдоподобия на основе DESeq для двух вложенных моделей.

Подробное описание изобретения

[60] В настоящем изобретении предложены способы лечения рака с помощью конъюгата «антитело против LIV1-лекарственное средство» (LIV1-ADC) в комбинации с антагонистом PD-1. Настоящее изобретение впервые показывает, что комбинированная терапия LIV1-ADC+антагонист PD-1 безопасна и эффективна при лечении рака.

[61] Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют то же значение, которое обычно придают им специалисты в данной области техники, к которой относится настоящее изобретение. В следующих источниках для специалистов в данной области техники приведено общее определение многих терминов, используемых в настоящем изобретении: Singleton et al., *DICTIONARY OF MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY* (2d ed. 1994); *THE CAMBRIDGE DICTIONARY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY* (Walker ed., 1988); *THE GLOSSARY OF GENETICS, 5TH ED.*, R. Rieger et al. (eds.), Springer Verlag (1991); и Hale & Marham, *THE HARPER COLLINS DICTIONARY OF BIOLOGY* (1991).

[62] Каждая публикация, заявка на патент, патент и другие источники, процитированные в настоящем документе, полностью включены в него посредством ссылки в той мере, в какой это не противоречит настоящему изобретению.

[63] Использование в данном описании и в прилагаемой формуле изобретения форм единственного числа включает ссылку на множественное число, если в контексте

явно не указано иное. Таким образом, например, ссылка на «производное» включает множество таких производных, а ссылка на «субъект» включает ссылку на один или более субъектов и так далее.

[64] Кроме того, при использовании термина «содержащий» в описании различных вариантов реализации специалисты в данной области техники должны понимать, что в некоторых конкретных случаях вариант реализации можно альтернативно описать с использованием формулировки «состоящий по существу из» или «состоящий из».

[65] Если не указано иное, все используемые в настоящем документе технические и научные термины имеют общепринятые значения, понятные специалисту в области техники, к которой относится настоящее изобретение. Хотя способы и материалы, аналогичные или эквивалентные описанным в настоящем документе, можно применять при реализации описанных способов и композиций, в настоящем документе описаны иллюстративные способы, устройства и материалы.

[66] «Рак» в данном контексте относится к заболеванию или нарушению, при котором клетки определенного типа, например клетки молочной железы, демонстрируют аномальный рост клеток, что приводит к опухолям или большим скоплениям аномально делящихся клеток. Рак охватывает одну или более опухолей, микроокружение опухоли, окружающее опухоль, а также клетки рака или опухоли, которые отрываются от исходной опухоли в одном месте и мигрируют или метастазируют в другую часть тела.

[67] «Лечение» относится к профилактическому лечению или терапевтическому лечению, или диагностическому лечению. Согласно определенным вариантам реализации «лечение» относится к введению соединения или композиции субъекту в терапевтических, профилактических или диагностических целях.

[68] «Профилактическое» лечение представляет собой лечение, проводимое у субъекта, у которого не наблюдаются признаки заболевания или наблюдаются только ранние признаки заболевания, с целью снижения риска развития патологии. Соединения или композиции согласно настоящему раскрытию могут быть введены в качестве профилактического лечения для снижения вероятности развития патологии или для сведения к минимуму тяжести патологии, если она развилась.

[69] «Терапевтическое» лечение представляет собой лечение, проводимое у субъекта, у которого наблюдаются признаки или симптомы патологии, с целью уменьшения или устранения этих признаков или симптомов. Признаки или симптомы могут быть биохимическими, клеточными, гистологическими, функциональными или физическими, субъективными или объективными.

[70] Термин «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» относится к количеству LIV-1-ADC, например, SGN-LIV1A, которое достаточно для ингибирования возникновения или улучшения одного или более клинических или диагностических симптомов LIV-1-ассоциированного расстройства у субъекта. Эффективное количество агента вводят в соответствии со способами, описанными в настоящем документе, по «эффективной схеме». Термин «эффективная

схема» относится к комбинации количества агента и частоты дозирования, адекватной для поддержания высокой оккупации LIV-1, что может обеспечить лечение или предотвращение расстройства, связанного с LIV-1. В предпочтительном варианте реализации эффективная схема поддерживает почти полную, например, более 90%, оккупацию LIV-1 клетками, экспрессирующими LIV-1, во время интервалов дозирования. Эффективное количество также относится к количеству антагониста PD-1, например антитела к PD-1 или антитела к PDL1, которое достаточно для ингибирования возникновения или ослабления одного или более клинических или диагностических симптомов PD-1/PD-L1-ассоциированного расстройства у субъекта.

[71] «Цитотоксический эффект» относится к истощению, элиминации и/или уничтожению клетки-мишени. «Цитотоксический агент» относится к агенту, который оказывает цитотоксический эффект на клетку. Цитотоксические агенты можно конъюгировать с антителом или вводить в комбинации с антителом. «Цитотоксическая терапия» относится к лечению цитотоксическим агентом.

[72] «Цитостатический эффект» относится к ингибированию пролиферации клеток. «Цитостатический агент» относится к агенту, который оказывает цитостатический эффект на клетку, тем самым ингибируя рост и/или размножение определенного подмножества клеток. Цитостатические агенты можно конъюгировать с антителом или вводить в комбинации с антителом.

[73] «Антагонист PD-1», используемый в настоящем документе, относится к любому химическому соединению или биологической молекуле, которая блокирует связывание PD-L1, экспрессируемого на раковой клетке, с PD-1, экспрессируемым на иммунной клетке (Т-клетке, Вс-клетке или НКТ-клетке), и предпочтительно также блокирует связывание PD-L2, экспрессируемого на раковой клетке, с PD-1, экспрессируемым иммунной клеткой. Альтернативные названия или синонимы для PD-1 и его лигандов включают: PDCD1, PD1, CD279 и SLEB2 для Pd-1; PDCD1L1, PDL1, B7H1, B7-4, CD274 и B7-H для PD-L1; и PDCD1L2, PDL2, B7-Dc, Btdc и CD273 для PD-L2. В любом из способов лечения и раскрытых применений, в которых человек получает лечение, антагонист PD-1 блокирует связывание PD-L1 человека с PD-1 человека и предпочтительно блокирует связывание как PD-L1, так и PD-L2 человека с PD-1 человека. Аминокислотные последовательности PD-1 человека можно найти в локусе NCBI No.: NP 005009. Аминокислотные последовательности PD-L1 и PD-L2 человека можно найти в локусе NCBI No.: NP 054862 и NP 079515 соответственно.

[74] Используемый в настоящем документе термин «ингибитор контрольной точки» относится к молекуле или терапевтическому средству, которое блокирует определенные белки, вырабатываемые некоторыми типами клеток иммунной системы, такими как Т-клетки, и некоторыми раковыми клетками. Эти белки помогают контролировать иммунный ответ и могут удерживать Т-клетки от уничтожения раковых клеток. Примеры белков контрольных точек, обнаруженных на Т-клетках или раковых клетках, включают PD-1, PD-L1, PD-L2, CD28, CTLA-4, B7-1, B7-2 (см. Словарь

онкологических терминов Национального института рака), а также ICOS, BTLA, TIM3 и LAG3.

[75] Рецептор «запрограммированной смерти-1» (PD-1) относится к иммуноингибирующему рецептору, принадлежащему к семейству CD28. PD-1 экспрессируется на предварительно активированных Т-клетках *in vivo* и связывается с двумя лигандами, PD-L1 и PD-L2. Полную последовательность PD-1 человека можно найти под регистрационным номером GenBank U64863.

[76] «Лиганд запрограммированной смерти-1» (PD-L1) и PD-L2 представляют собой лиганды клеточной поверхности для PD-1, которые подавляют активацию Т-клеток и секрецию цитокинов при связывании с PD-1. Полную последовательность PD-L1 человека можно найти под регистрационным номером GenBank Q9NZQ7.

[77] Термины «специфичное связывание» и «специфично связывает» означают, что описанное в настоящем документе антитело, например, антитело против LIV-1 или антитело против PD-1, будет реагировать высокоселективным образом с соответствующей мишенью, а не со множеством других антигенов.

[78] Термин «моноклональное антитело» относится к антителу, полученному из клона одной клетки, включая любой клон эукариотической или прокариотической клетки или фаговый клон, а не к способу, с помощью которого его получают. Таким образом, в настоящем документе термин «моноклональное антитело» не ограничивается антителами, полученными с помощью гибридомной технологии.

[79] В настоящем документе термин «фармацевтически приемлемый» относится к тем соединениям, материалам, композициям и/или лекарственным формам, которые в рамках рационального медицинского решения подходят для контакта с тканями людей и животных, не вызывая чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, соразмерно обоснованному соотношению польза/риск. Термин «фармацевтически совместимый ингредиент» относится к фармацевтически приемлемому разбавителю, адъюванту, вспомогательному веществу или среде-носителю, с которым вводят антитело против LIV-1.

[80] Фраза «фармацевтически приемлемая соль» относится к фармацевтически приемлемым органическим или неорганическим солям описанного в настоящем документе антитела, например, антителу против LIV-1 или его конъюгату, или агенту, вводимому с антителом против LIV-1 или LIV1-ADC. Примеры солей включают сульфат, цитрат, ацетат, оксалат, хлорид, бромид, йодид, нитрат, бисульфат, фосфат, кислый фосфат, изоникотинат, лактат, салицилат, кислый цитрат, тартрат, олеат, таннат, пантотенат, битартрат, аскорбат, сукцинат, малеат, гентизинат, fumarat, глюконат, глюкуронат, сахарат, формиат, бензоат, глутамат, метансульфонат, этансульфонат, бензолсульфонат, п-толуолсульфонат и памоат (т.е. 1,1'-метилден-бис-(2-гидрокси-3-нафтоат)) соли. Фармацевтически приемлемая соль может охватывать включение другой молекулы, такой как ацетат-ион, сукцинат-ион или другой противоион. Противоион может быть любым органическим или неорганическим фрагментом, который

стабилизирует заряд исходного соединения. Кроме того, фармацевтически приемлемая соль может иметь в своей структуре более одного заряженного атома. Множественные противоионы могут встречаться в случаях, когда несколько заряженных атомов являются частью фармацевтически приемлемой соли. Следовательно, фармацевтически приемлемая соль может иметь один или более заряженных атомов и/или один или более противоионов. Термин «фармацевтически совместимый ингредиент» относится к фармацевтически приемлемому разбавителю, адъюванту, вспомогательному веществу или среде-носителю, с которым вводят конъюгат антители-лекарственное средство.

[81] Если не указано иное, термины «субъект» или «пациент» используются взаимозаменяемо и относятся к млекопитающим, таким как пациенты-люди и приматы, а также к экспериментальным животным, таким как кролики, собаки, кошки, крысы, мыши и другие животные. Соответственно, термин «субъект» или «пациент», используемый в настоящем документе, обозначает любого пациента-млекопитающего или субъекта, которому можно вводить LIV1-ADC согласно настоящему изобретению. В предпочтительных вариантах реализации термины «субъект» или «пациент» используются для обозначения пациентов-людей. Субъекты согласно настоящему изобретению включают тех, у кого был диагностирован рак, экспрессирующий LIV-1, включая, например, рак молочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, рак эндометрия, рак поджелудочной железы, рак легких, рак шейки матки, меланому или плоскоклеточную карциному. В некоторых вариантах реализации у субъекта будет рефрактерный или рецидивирующий рак, экспрессирующий LIV-1, или метастатический рак, экспрессирующий LIV-1.

[82] Композиции или способы, «содержащие» один или более перечисленных элементов, могут включать другие элементы, конкретно не указанные. Например, композиция, содержащая антитело, может содержать антитело отдельно или в комбинации с другими ингредиентами.

[83] Термины «идентичный» или «процент идентичности» в контексте двух или более последовательностей нуклеиновых кислот или полипептидов относятся к двум или более последовательностям или подпоследовательностям, которые являются одинаковыми или характеризуются определенной долей нуклеотидов или аминокислотных остатков, которые являются одинаковыми при сравнении и выравнивании для максимального соответствия. Для определения процентной идентичности последовательности выравнивают в целях оптимального сравнения (например, в первую аминокислотную или нуклеотидную последовательность можно ввести разрывы для оптимального выравнивания со второй аминокислотной или нуклеотидной последовательностью). Затем сравнивают аминокислотные остатки или нуклеотиды в соответствующих аминокислотных или нуклеотидных положениях. Когда положение в первой последовательности занято тем же аминокислотным остатком или нуклеотидом, что и соответствующее положение во второй последовательности, то молекулы в этом положении идентичны. Процент идентичности между двумя

последовательностями является функцией количества идентичных положений, совместно используемых последовательностями (то есть % идентичности = количество идентичных положений/общее количество положений (например, перекрывающихся положений) $\times 100$). В определенных вариантах реализации две последовательности имеют одинаковую длину.

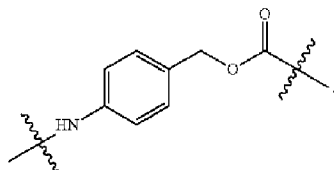
[84] Термин «по существу идентичный» в контексте двух нуклеиновых кислот или полипептидов относится к двум или более последовательностям или подпоследовательностям, характеризующимся по меньшей мере 70% или по меньшей мере 75% идентичностью; в более типичном случае - по меньшей мере 80% или по меньшей мере 85% идентичностью; и в еще более типичном случае - по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью (например, при определении с использованием одного из способов, приведенных ниже).

[85] Процентную идентичность двух последовательностей можно определить с использованием математического алгоритма. Предпочтительным неограничивающим примером математического алгоритма, используемого для сравнения двух последовательностей, является алгоритм из Karlin and Altschul, 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:2264-2268, модифицированный в соответствии с Karlin and Altschul, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5877. Такой алгоритм включен в программы NBLAST и XBLAST Altschul, et al., 1990, *J. Mol. Biol.* 215:403-410. BLAST-поиск нуклеотидных последовательностей можно выполнить с использованием программы NBLAST, балльного показателя=100, длины слова=12, получая нуклеотидные последовательности, гомологичные нуклеиновой кислоте, кодирующей представляющий интерес белок. BLAST-поиск белковых последовательностей можно выполнить с использованием программы XBLAST, балльного показателя=50, длины слова=3, получая аминокислотные последовательности, гомологичные представляющему интерес белку. Для получения выравнивания с внесенными в целях сравнения разрывами можно использовать Gapped BLAST, описанную в Altschul et al., 1997, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402. В качестве альтернативы, для выполнения итеративного поиска, обнаруживающего отдаленные соответствия между молекулами (Id.), можно использовать PSI-Blast. Другим предпочтительным неограничивающим примером математического алгоритма, используемого для сравнения последовательностей, является алгоритм Myers and Miller, CABIOS (1989). Такой алгоритм включен в программу ALIGN (версия 2.0), которая является частью программного пакета GCG для выравнивания последовательностей. Дополнительные алгоритмы для анализа последовательностей известны в данной области техники и включают ADVANCE и ADAM, описанные в Torellis and Robotti, 1994, *Comput. Appl. Biosci.* 10:3-5; и FASTA, описанную в Pearson and Lipman, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85:2444-8. В качестве альтернативы, выравнивание белковых последовательностей можно выполнять с использованием алгоритма CLUSTAL W, описанного в Higgins et al., 1996, *Methods Enzymol.* 266: 383-402.

[86] Аббревиатура «ММАЕ» относится к монометилауристатину E.

[87] Сокращения «vc» и «val-cit» относятся к дипептиду валин-цитруллин.

[88] Аббревиатура «PAB» относится к саморасщепляющемуся спейсеру:



LIV-1-ADC

[89] Антитела согласно настоящему изобретению можно описывать или указывать с точки зрения конкретных CDR или вариабельных областей, которые они содержат. Кроме того, антитела согласно настоящему изобретению также можно описывать или указывать с точки зрения их первичной структуры. Антитела, характеризующиеся по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% и, наиболее предпочтительно, по меньшей мере 98% идентичностью (рассчитанной с использованием способов, известных в данной области техники и описанных в настоящем документе) вариабельным областям, описанным в настоящем документе, также включены в настоящее изобретение. Антитела, применимые в способах согласно настоящему изобретению, также могут быть описаны или указаны с точки зрения их аффинности связывания. Предпочтительные значения сродства связывания включают сродство связывания с константой диссоциации или K_d менее 5×10^{-2} М, 10^{-2} М, 5×10^{-3} М, 10^{-3} М, 5×10^{-4} М, 10^{-4} М, 5×10^{-5} М, 10^{-5} М, 5×10^{-6} М, 10^{-6} М, 5×10^{-7} М, 10^{-7} М, 5×10^{-8} М, 10^{-8} М, 5×10^{-9} М, 10^{-9} М, 5×10^{-10} М, 10^{-10} М, 5×10^{-11} М, 10^{-11} М, 5×10^{-12} М, 10^{-12} М, 5×10^{-13} М, 10^{-13} М, 5×10^{-14} М, 10^{-14} М, 5×10^{-15} М или 10^{-15} М.

[90] Антитела также включают модифицированные производные, т.е. модифицированные посредством ковалентного присоединения молекулы любого типа к антителу таким образом, что ковалентное присоединение не мешает антителу связываться с LIV-1 или оказывать цитостатический или цитотоксический эффект на опухолевые клетки. Например, но не в качестве ограничения, производные антител включают антитела, модифицированные, например, путем гликозилирования, ацетилирования, пэгилирования, фосфорилирования, амидирования, присоединения известных защитных/блокирующих групп, протеолитического расщепления, связывания с клеточным лигандом или другим белком и т. д. Любые многочисленные химические модификации можно выполнить с использованием известных методик, включая специфичное химическое расщепление, ацетилирование, формилирование, метаболический синтез туникамицина и т.д., но не ограничиваясь этим. Кроме того, производное может содержать одну или более неклассических аминокислот.

[91] Антитела согласно настоящему изобретению можно получить любым

подходящим способом, известным в данной области техники.

[92] Используемый в настоящем документе термин «конъюгат антитела против LIV-1-лекарственное средство» (LIV-1-ADC; LV) включает антитело, специфичное к человеческому белку LIV-1, конъюгированное с цитотоксическим агентом. Типовой последовательности человеческого LIV-1 присвоен номер доступа Swiss Prot Q13433. Q13433 включен в настоящее описание как SEQ ID NO: 1. Известны три варианта изоформы и один полиморфизм. Вторая версия белка LIV-1 человека, регистрационный номер AAA96258.2, включена в настоящее описание как SEQ ID NO:2. Четыре внеклеточных домена ограничены остатками 29-325, 377-423, 679-686 и 746-755 Q13433 соответственно.

[93] SGN-LIV1A представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), направленный на LIV-1, полученный путем конъюгации линкера лекарственного средства vcMMAE (монометилауристатин E с линкером валин-цитруллин) с гуманизированным антителом hLIV22. hLIV22 представляет собой гуманизированную форму мышиного антитела BR2-22a, описанного в патенте США № 9228026. Антитело hLIV22 по существу такое же, как BR2-22a, в пределах ошибки эксперимента, и содержит семь обратных мутаций. Способы получения антитела hLIV22 также раскрыты в патенте США № 9228026. Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи hLIV22 представлена в настоящем документе как SEQ ID NO: 3. Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи hLIV22 представлена в настоящем документе как SEQ ID NO: 4.

[94] Антитела, характеризующиеся по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% и, наиболее предпочтительно, по меньшей мере 98% идентичностью (рассчитанной с использованием способов, известных в данной области техники и описанных в настоящем документе) вариабельным областям hLIV22, также включены в данное изобретение и предпочтительно содержат CDR из hLIV22.

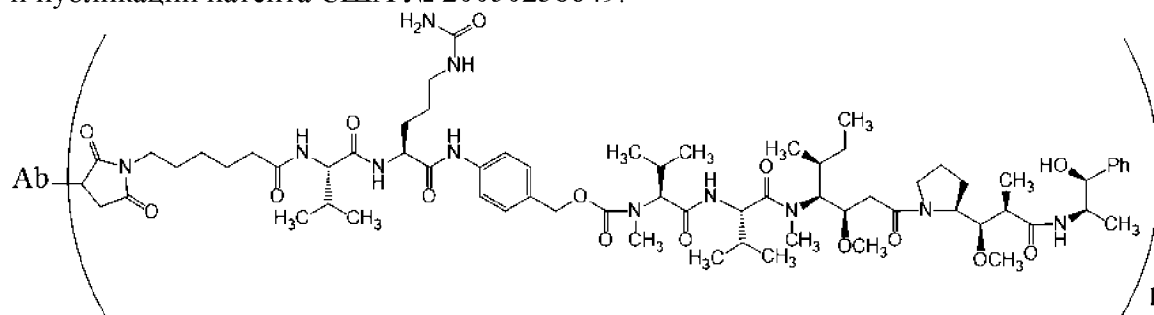
[95] В различных вариантах реализации антитело против LIV-1 в составе LIV-1-ADC содержит i) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи антитела hLIV22 и ii) CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи антитела hLIV22.

[96] В различных вариантах реализации антитело против LIV-1 в составе LIV1-ADC также содержит i) аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную вариабельной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 4, и ii) аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную вариабельной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 3. В различных вариантах реализации антитело против LIV-1 в составе LIV-1-ADC также содержит i) аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную вариабельной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 4, и ii) аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную вариабельной области легкой цепи, представленной в

SEQ ID NO: 3. В различных вариантах реализации антитело против LIV-1 в составе LIV-1-ADC также содержит i) аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную вариабельной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 4, и ii) аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную вариабельной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 3. Различных вариантах реализации антитело против LIV-1 в составе LIV-1-ADC содержит i) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи, указанную в SEQ ID NO: 4, и ii) аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи, указанную в SEQ ID NO: 3.

[97] В различных вариантах реализации антитело против LIV-1 (i) перекрестно конкурирует с антителом, содержащим вариабельную область тяжелой цепи, указанную в SEQ ID NO: 4; и ii) вариабельную область легкой цепи, указанную в SEQ ID NO: 3, для связывания с LIV-1; или (ii) связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, указанную в SEQ ID NO: 4; и ii) вариабельную область легкой цепи, указанную в SEQ ID NO: 3, для связывания с LIV-1.

[98] Синтез и конъюгация линкера лекарственного средства vcMMAE (показанного ниже; также обозначаемого как 1006) дополнительно описаны в патенте США № 9228026 и публикации патента США № 20050238649.



vcMMAE

[99] Ладиратузумаб ведотин представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, направленный против LIV-1, состоящий из трех компонентов: (i) гуманизированного антитела hLIV22, специфичного в отношении человеческого LIV-1, (ii) агента, разрушающего микротрубочки, MMAE, и (iii) расщепляемого протеазой линкера, ковалентно присоединяющего MMAE к hLIV22. Отношение лекарственного средства к антителу или нагрузка лекарственного средства представлены буквой «р» в структуре ладиратузумаба ведотина.

[100] В различных вариантах реализации конъюгат «антитело против LIV-1-лекарственное средство» представляет собой ладиратузумаб ведотин.

Комбинированная терапия химиотерапевтическими агентами и LIV-1-ADC

[101] Рак можно лечить с помощью комбинации LIV1-ADC и антагониста PD-1. Примеры антагонистов PD-1 включают антитела, такие как антитела против PD-1 (например, MEDI0680, AMP-224, ниволумаб, пембролизумаб и пидилизумаб) и антитела против PD-L1 (например, MEDI4736 и MPDL3280A). В WO 2017161007 описано

использование комбинации LIV-ADC с химиотерапевтическими средствами для лечения рака.

[102] Предполагается, что комбинированную терапию посредством LIV1-ADC можно также проводить с другими ингибиторами контрольных точек. Примеры дополнительных ингибиторов контрольных точек (ингибиторов, которые блокируют иммунные контрольные точки), которые можно использовать, включают антитела против CTLA4 (например, ипилимумаб и тремелидумаб), B7-DC-Fc, LAG3 и TIM3. WO 2017/161007 описывает применение комбинации LIV-ADC с химиотерапевтическими средствами для лечения рака.

[103] Моноклональные антитела человека, которые связываются с PD-1, были раскрыты в патентах США № 8008449, 6808710, 7488802, 8168757 и 8354509, а также в публикации PCT № WO 2012/145493.

[104] В одном варианте реализации антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб. Пембролизумаб («KEYTRUDA[®]», ламбролизумаб, МК-3475) представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG4, направленное против рецептора PD-1 на поверхности клеток человека (запрограммированная гибель-1 или запрограммированная гибель клеток-1). Пембролизумаб описан, например, в публикации международной заявки PCT № WO 2008/156712 и имеет структуру, изложенную в WHO Drug Information, Vol. 27, No. 2, pages 161-162 (2013). Пембролизумаб был одобрен FDA для лечения рецидивирующей или рефрактерной меланомы и распространенного NSCLC. В различных вариантах реализации антитело против PD-1 или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурируют с пембролизумабом. В различных вариантах реализации антитело против PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и пембролизумаб. В различных вариантах реализации антитело против PD-1 имеет те же CDR, что и пембролизумаб.

[105] «Вариант пембролизумаба», как используется в настоящем документе, относится к моноклональному антителу, которое содержит последовательности тяжелой и легкой цепей, практически идентичные последовательностям пембролизумаба, за исключением наличия трех, двух или одной консервативной аминокислотной замены в положениях, расположенных за пределами CDR легкой цепи, и шесть, пять, четыре, три, две или одну замену консервативных аминокислот, которые расположены за пределами CDR тяжелой цепи, например, варианты положения расположены в каркасных (FR) областях или константной области, и необязательно имеет делецию С-концевого остатка лизина тяжелой цепи. Другими словами, пембролизумаб и вариант пембролизумаба содержат идентичные последовательности CDR, но отличаются друг от друга из-за наличия консервативной аминокислотной замены не более чем в трех или шести других положениях их полноразмерных последовательностей легкой и тяжелой цепей, соответственно. Вариант пембролизумаба по существу аналогичен пембролизумабу в отношении следующих свойств: аффинность связывания с PD-1 и способность блокировать связывание каждого из PD-L1 и PD-L2 с PD-1.

[106] В таблице 1 представлен список аминокислотных последовательностей типичных антител против PD1 для использования в раскрытых в настоящем документе способах.

Таблица 1. Примеры антител против PD-1 человека	
А. Содержит CDR легкой и тяжелой цепи hPD-1.09A в WO 2008/156712 (CDR легкой и тяжелой цепи пембролизумаба).	
CDRL1	RASKGVSTSGYSYLH SEQ ID NO: 5
CDRL2	LASYLES SEQ ID NO: 6
CDRL3	QHSRDLPLT SEQ ID NO: 7
CDRH1	NYYMY SEQ ID NO: 8
CDRH2	GINPSNGGTNFNEKFKN SEQ ID NO: 9
CDRH3	RDYRFDMGFDY SEQ ID NO: 10
В. Содержит CDR легкой и тяжелой цепи hPD-1.08A в WO 2008/156712	
CDRL1	RASKSVSTSGFSYLH SEQ ID NO: 11
CDRL2	LASNLES SEQ ID NO: 12
CDRL3	QHSWELPLT SEQ ID NO: 13
CDRH1	SYLY SEQ ID NO: 14
CDRH2	GVNPSNGGTNFSEKFKS SEQ ID NO: 15
CDRH3	RDSNYDGGFDY SEQ ID NO: 16
С. Содержит вариабельную область тяжелой цепи зрелого h109A (V _H) и одну из вариабельных областей легкой цепи (V _L) зрелого K09A в WO 2008/156712	
Тяжелая цепь V _H	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQ GLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQF DDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGGTTVTVSS SEQ ID NO: 17 (VH пембролизумаба)
Легкая цепь V _L	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPG QAPRLLIYLALESYGVPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFAVYYC

	QHSRDLPLTFGGGKVEIK SEQ ID NO: 18 (V_L пембролизумаба) или EIVLTQSPLSLPVTGPGEASISCRASKGVSTSGYSYLHWYLQKPGQ SPQLLIYLASYLESQVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC QHSRDLPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 19) или DIVMTQTPLSLPVTGPGEASISCRASKGVSTSGYSYLHWYLQKPGQ SPQLLIYLASYLESQVPDRFSGSGSGTAFTLKISRVEAEDVGLYYC QHSRDLPLTFGQGTKLEIK SEQ ID NO: 20
D. Содержит тяжелую цепь зрелого 409 и одну из легких цепей зрелого K09A в WO 2008/156712	
Тяжелая цепь	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYYMYWVRQAPGQ GLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQF DDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGGQTTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD GSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG K SEQ ID NO: 21 (тяжелая цепь пембролизумаба)
Легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPG QAPRLLIYLASYLESQVPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYC QHSRDLPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC SEQ ID NO: 22 (легкая цепь пембролизумаба) или EIVLTQSPLSLPVTGPGEASISCRASKGVSTSGYSYLHWYLQKPGQ SPQLLIYLASYLESQVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC QHSRDLPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC SEQ ID NO: 23 или DIVMTQTPLSLPVTGPGEASISCRASKGVSTSGYSYLHWYLQKPGQ SPQLLIYLASYLESQVPDRFSGSGSGTAFTLKISRVEAEDVGLYYC QHSRDLPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[107] Также рассматриваются варианты областей тяжелой и легкой цепи вышеуказанного антитела против PD-1, представленные в таблице 1, где варианты сохраняют последовательность CDR в исходной вариабельной области, например, как описано в таблице 1. В различных вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит i) аминокислотную последовательность, по меньшей мере, на 85%, 90% или 95% идентичную вариабельной области тяжелой цепи, указанной в таблице 1, и ii) аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85%, 90% или 95% идентичную вариабельной области легкой цепи, указанной в таблице 1.

[108] В одном варианте реализации антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб. Ниволумаб (также известный как «OPDIVO®»; ранее обозначавшийся как 5C4, BMS-936558, MDX-1106 или ONO-4538), представляет собой полностью человеческое антитело-ингибитор контрольной точки IgG4 (S228P) PD-1, которое избирательно предотвращает взаимодействие с лигандами PD-1 (PD-L1 и PD-L2), блокируя подавление функций противоопухолевых Т-клеток (патент США № 8008449; Wang et al., 2014 Cancer Immunol Res. 2(9):846-56). Ниволумаб имеет структуру, описанную в WHO Drug Information, Vol. 27, No. 1, pages 68-69 (2013), включенном в настоящий документ посредством ссылки. В другом варианте реализации антитело против PD-1 или его фрагмент перекрестно конкурирует с ниволумабом. В некоторых вариантах реализации антитело против PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб. В некоторых вариантах реализации антитело против PD-1 имеет те же CDR, что и ниволумаб.

[109] Дополнительные антитела против PD-1, предполагаемые для применения в настоящем документе, включают MEDI0680 (патент США № 8609089), BGB-A317 (публикация патента США № 2015/0079109), INCSHR1210 (SHR-1210) (WO2015/085847), REGN-2810 (WO2015/112800) PDR001 (WO2015/112900), TSR-042 (ANB011) (WO2014/179664) и STI-1110 (WO2014/194302).

[110] В различных вариантах реализации антитело против PD-1 или его антигенсвязывающая часть представляет собой химерное, гуманизированное или человеческое моноклональное антитело или его часть. В различных вариантах реализации антитело представляет собой человеческое или гуманизированное антитело. Предложены антитела, имеющие изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

[111] В различных вариантах реализации антитело против PD-1 (i) перекрестно конкурирует с ниволумабом или пембролизумабом за связывание с PD-1 человека; (ii) связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб или пембролизумаб; (iii) представляет собой ниволумаб; или (iv) представляет собой пембролизумаб.

[112] В различных вариантах реализации антитело против PD-1 (i) перекрестно конкурирует с ниволумабом или пембролизумабом за связывание с PD-1 человека; (ii) связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб или пембролизумаб; (iii) представляет собой ниволумаб; (iv) представляет собой пембролизумаб; или (v) представляет собой вариант пембролизумаба.

[113] Лечение комбинированной терапией LIV1-ADC+антагонист PD-1 согласно настоящему изобретению может быть дополнительно объединено с дополнительной химиотерапией, облучением, лечением стволовыми клетками, хирургическим вмешательством и другими видами лечения, эффективными против подлежащего лечению расстройства. Подходящие классы других агентов, которые можно вводить вместе с комбинированной терапией согласно настоящему изобретению, включают, например, антитела к другим рецепторам, экспрессированным на раковых клетках, включая антитела к рецептору HER2 (например, трастузумаб, растузумаб эмтансин (KADCYLA®, Genentech, Южная Сан-Франциско, Калифорния), антитубулиновые агенты (например, ауристатины), пертузумаб (PERJETA®, Genentech, Южный Сан-Франциско, Калифорния)) или другие конъюгаты антител с лекарственными средствами, такие как сацитумаб говитекан, вещества, связывающие малую бороздку ДНК, ингибиторы репликации ДНК, алкилирующие агенты (*например*, комплексы платины, такие как *цис*-платин, моно(платина), бис(платина) и трехъядерные комплексы платины и карбоплатин), антрациклины, антибиотики, антифолаты, антиметаболиты, химиотерапевтические сенсibilизаторы, дуокармицины, этопозиды, фторированные пиримидины, ионофоры, лекситропсины, нитрозомочевины, платинолы, соединения для предварительного формирования, пуриновые антиметаболиты, пуромицины, радиационные сенсibilизаторы, стероиды, таксаны, ингибиторы топоизомеразы, алкалоиды барвинка и тому подобное.

[114] В различных вариантах реализации лечение антагонистом LIV-1-ADC+PD-1 дополнительно включает дополнительное химиотерапевтическое средство, включая, помимо прочего, карбоплатин, доксорубицин или паклитаксел, трастузумаб, ингибитор mTOR (такой как эверолимус). Карбоплатин (PARAPLATIN®; Bristol Myers Squibb, New York, NY) представляет собой алкилирующий агент. Доксорубицин (ADRIAMYCIN®, RUBEX®, DOXIL®, MYOCEL® или CAELYX®) представляет собой антрациклиновый антибиотик с противоопухолевой активностью. Паклитаксел (ABRAXANE®; Celgene, Summit, NJ) представляет собой таксан, который ингибирует разрушение микротрубочек.

[115] Комбинацию LIV-1-ADC и антагониста PD-1, например, антитела против PD-1, можно вводить субъектам в количествах, которые ингибируют рост раковых клеток, и в то же время переносятся субъектом. В некоторых вариантах реализации комбинация LIV1-ADC и ингибитора контрольной точки является синергетической или аддитивной. Для некоторых комбинаций каждое средство в комбинации можно эффективно вводить в более низких количествах, чем при введении по отдельности.

Способы применения

[116] Как обсуждалось выше, комбинированная терапия согласно настоящему изобретению может быть использована для лечения рака. Некоторые такие виды рака демонстрируют обнаруживаемые уровни LIV-1, измеренные либо на уровне белка (например, с помощью иммунологического анализа с использованием одного из приведенных в качестве примера антител), либо на уровне мРНК. Некоторые такие виды рака показывают повышенные уровни LIV-1 по сравнению с нераковой тканью того же

типа, предпочтительно от того же пациента. Примерный уровень LIV-1 в раковых клетках, поддающихся лечению, составляет 5000-150000 молекул LIV-1 на клетку, хотя можно лечить более высокие или более низкие уровни. Необязательно уровень LIV-1 для рака измеряют перед проведением лечения.

[117] В различных вариантах реализации субъект имеет опухоль, содержащую одну или более клеток, экспрессирующих LIV-1. В различных вариантах реализации по меньшей мере примерно 0,01%, по меньшей мере примерно 0,1%, по меньшей мере примерно 1%, по меньшей мере примерно 2%, по меньшей мере примерно 3%, по меньшей мере примерно 4%, по меньшей мере примерно 5%, по меньшей мере примерно 6%, по меньшей мере примерно 7%, по меньшей мере примерно 8%, по меньшей мере примерно 9%, по меньшей мере примерно 10%, по меньшей мере примерно 15%, по меньшей мере примерно 20%, по меньшей мере примерно 25%, по меньшей мере примерно 30%, по меньшей мере примерно 35%, по меньшей мере примерно 40%, по меньшей мере примерно 45%, по меньшей мере примерно 50%, по меньшей мере примерно 55%, по меньшей мере примерно 60%, по меньшей мере примерно 65%, по меньшей мере примерно 70%, по меньшей мере примерно 75%, по меньшей мере примерно 80%, по меньшей мере примерно 85%, по меньшей мере примерно 90% или по меньшей мере примерно 95% опухолевых клеток экспрессируют LIV-1.

[118] Примерные дозы LIV-1-ADC составляют от 0,1 мг/кг до 50 мг/кг массы тела пациента, чаще от 1 мг/кг до 30 мг/кг, от 1 мг/кг до 20 мг/кг, от 1 мг/кг до 15 мг/кг, от 1 мг/кг до 12 мг/кг, от 1 мг/кг до 10 мг/кг, от 2 мг/кг до 30 мг/кг, от 2 мг/кг до 20 мг/кг, от 2 мг/кг до 15 мг/кг, от 2 мг/кг до 12 мг/кг, от 2 мг/кг до 10 мг/кг, от 3 мг/кг до 30 мг/кг, от 3 мг/кг до 20 мг/кг, от 3 мг/кг до 15 мг/кг, от 3 мг/кг до 12 мг/кг или от 3 мг/кг до 10 мг/кг. В некоторых способах пациенту вводят дозу по меньшей мере примерно 1,0 мг/кг, 1,25 мг/кг, 1,5 мг/кг, 1,75 мг/кг, 2 мг/кг, 2,5 мг/кг или 3 мг/кг, вводимую раз в неделю или раз в три недели или чаще. В одном варианте реализации LIV-1-ADC вводят в дозе 1,0 мг/кг. В одном варианте реализации LIV-1-ADC вводят в дозе 1,25 мг/кг. В одном варианте реализации LIV-1-ADC вводят в дозе 1,5 мг/кг. В одном варианте реализации LIV-1-ADC вводят в дозе 1,75 мг/кг. В одном варианте реализации LIV-1-ADC вводят в дозе 2,0 мг/кг. В одном варианте реализации LIV-1-ADC вводят в дозе 2,5 мг/кг. В различных вариантах реализации LIV-1-ADC вводят в дозе 1,0 мг/кг или 1,25 мг/кг еженедельно. В другом варианте реализации LIV-1-ADC вводят в дозе от 0,5 мг/кг до 2,8 мг/кг раз в неделю или раз в три недели. В другом варианте реализации LIV-1-ADC вводят в дозе от 1,0 мг/кг до 1,75 мг/кг раз в неделю или раз в три недели. В другом варианте реализации LIV-1-ADC вводят в дозе от 2,0 мг/кг до 2,5 мг/кг раз в три недели. Дозировка зависит от частоты введения, состояния пациента и ответа на предшествующее лечение, если таковое имеется, от того, является ли лечение профилактическим или терапевтическим, а также от того, является ли расстройство острым или хроническим, среди других факторов.

[119] Также предполагается, что субъект имеет опухоль, экспрессирующую PD-1 или лиганд для PD-1, например, PD-L1 или PD-L2. Способы измерения уровней PD-1, PD-

L1 или PD-L2, известные в данной области техники, рассматриваются в настоящем документе для определения уровней молекул в опухолевой клетке. См., например, WO 2017/210473.

[120] В различных вариантах реализации уровень экспрессии PD-L1 в опухоли составляет по меньшей мере примерно 1%, по меньшей мере примерно 2%, по меньшей мере примерно 3%, по меньшей мере примерно 4%, по меньшей мере примерно 5%, по меньшей мере примерно 6%, по меньшей мере примерно 7%, по меньшей мере примерно 8%, по меньшей мере примерно 9%, по меньшей мере примерно 10%, по меньшей мере примерно 11%, по меньшей мере примерно 12%, по меньшей мере примерно 13%, по меньшей мере примерно 14%, по меньшей мере примерно 15%, по меньшей мере примерно 20%, по меньшей мере примерно 25%, по меньшей мере примерно 30%, по меньшей мере примерно 40%, по меньшей мере примерно 50%, по меньшей мере примерно 60%, по меньшей мере примерно 70%, по меньшей мере примерно 75%, по меньшей мере примерно 80%, по меньшей мере примерно 85%, по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 95% или примерно 100%.

[121] В различных вариантах реализации доза антитела против PD-1 может быть введена от по меньшей мере примерно 0,1 мг/кг до по меньшей мере примерно 10 мг/кг, от примерно 0,01 мг/кг до примерно 5 мг/кг, от примерно 1 мг/кг до примерно 5 мг/кг, от примерно 2 мг/кг до примерно 5 мг/кг, от примерно 1 мг/кг до примерно 3 мг/кг или от примерно 7,5 мг/кг до примерно 12,5 мг/кг. В различных вариантах реализации антитело против PD-1 вводят на основе количества дозы. В различных вариантах реализации доза антитела против PD-1 составляет примерно 100-600 мг, примерно 400-500 мг, примерно 100-200 мг, примерно 200-400 мг или примерно 100-300 мг. В различных вариантах реализации антитело против PD-1 вводят в дозе примерно 60 мг, примерно 80 мг, примерно 100 мг, примерно 120 мг, примерно 130 мг, примерно 140 мг, примерно 160 мг, примерно 180 мг, примерно 200 мг, примерно 220 мг, примерно 240 мг, примерно 260 мг, примерно 280 мг, по меньшей мере примерно 300 мг, примерно 320 мг, примерно 360 мг, примерно 400 мг, примерно 440 мг, примерно 480 мг, примерно 500 мг, примерно 550 мг или примерно 600 мг.

[122] В различных вариантах реализации терапия анти-LIV-1-ADC+антагонист PD-1 дополнительно включает введение другого химиотерапевтического средства. В различных вариантах реализации дополнительным химиотерапевтическим средством является карбоплатин, доксорубин или паклитаксел. В комбинации с антагонистом PD-1 и, необязательно, с карбоплатином, доксорубицином или паклитакселом, LIV1-ADC вводят в дозе от 0,5 мг/кг до 6 мг/кг. Другие подходящие диапазоны доз LIV1-ADC в комбинации представляют собой от 1 мг/кг до 5 мг/кг и от 2 мг/кг до 3 мг/кг. В одном варианте реализации LIV1-ADC вводят в дозе 1,0 мг/кг, 1,25 мг/кг, 1,5 мг/кг, 1,75 мг/кг, 2,0 мг/кг или 2,5 мг/кг в комбинации с химиотерапевтическим средством, таким как карбоплатин, доксорубин или паклитаксел. В различных вариантах реализации LIV-1-ADC вводят в дозе от 0,5 мг/кг до 2,8 мг/кг или в дозе от 1,0 мг/кг до 1,75 мг/кг в

комбинации с химиотерапевтическим средством, таким как карбоплатин, доксорубицин или паклитаксел. В комбинации с LIV1-ADC и антагонистом PD-1 карбоплатин вводят в дозе от 100 мг/м^2 до 950 мг/м^2 . Другие подходящие диапазоны доз карбоплатина в комбинации составляют от 200 мг/м^2 до 750 мг/м^2 и от 300 мг/м^2 до 600 мг/м^2 . В одном варианте реализации карбоплатин вводят в дозе 300 мг/м^2 в комбинации с LIV1-ADC и антагонистом PD-1. В другом варианте реализации карбоплатин вводят в дозе AUC 6 в/в в комбинации с LIV-1-ADC и антагонистом PD-1.

[123] В комбинации с LIV-1-ADC и антагонистом PD-1 доксорубицин вводят в дозе от 30 мг/м^2 до 90 мг/м^2 . Другие подходящие диапазоны доз доксорубицина в комбинации составляют от 40 мг/м^2 до 80 мг/м^2 и от 60 мг/м^2 до 75 мг/м^2 . В одном варианте реализации доксорубицин вводят в дозе 60 мг/м^2 в комбинации с LIV1-ADC и антагонистом PD-1. В комбинации с LIV1-ADC и антагонистом PD-1 паклитаксел вводят в дозе от 50 мг/м^2 до 300 мг/м^2 . Другие подходящие диапазоны доз паклитаксела в комбинации составляют от 100 мг/м^2 до 260 мг/м^2 и от 135 мг/м^2 до 175 мг/м^2 . В одном варианте реализации паклитаксел вводят в дозе 175 мг/м^2 в комбинации с LIV1-ADC и антагонистом PD-1. В другом варианте реализации паклитаксел вводят в дозе 80 мг/м^2 в комбинации с LIV1-ADC и антагонистом PD-1.

[124] Примеры рака, связанного с экспрессией LIV-1 и поддающегося лечению с помощью LIV-1-ADC или комбинированной терапии согласно настоящему изобретению, включают рак молочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, рак эндометрия, рак поджелудочной железы, рак шейки матки, печени, желудка, почек, и плоскоклеточную карциному (например, мочевого пузыря, головы, шеи и легкого), рак кожи, например, меланому, мелкоклеточный рак легкого или карциноид легкого, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC) - плоскоклеточный или неплоскоклеточный, аденокарциному пищевода-желудочного перехода (GEJ), плоскоклеточную карциному пищевода и плоскоклеточную карциному головы и шеи. Лечение может быть применено к пациентам с первичными или метастатическими опухолями этих видов. Лечение также может быть применено к пациентам, которые не поддаются обычному лечению (например, при раке молочной железы: гормоны, тамоксифен, ГЕРЦЕПТИН®) или у которых возник рецидив после ответа на такое лечение. Способы также могут быть использованы при трижды негативном раке молочной железы. Трижды негативный рак молочной железы представляет собой термин, обозначающий рак, в котором отсутствуют определяемые рецепторы эстрогена и прогестерона и отсутствует сверхэкспрессия HER2/neu при окрашивании антителом к любому из этих рецепторов, как описано в примерах. Эти способы также можно использовать при трижды положительном раке молочной железы, гормон-рецептор-положительном раке молочной железы и HER2-положительном раке молочной железы. Окрашивание может быть выполнено относительно нерелевантного контрольного антитела, а отсутствие экспрессии показано при фоновом уровне напряжения, таком же или близком к контрольному в пределах ошибки эксперимента. Точно так же отсутствие сверхэкспрессии показано путем

окрашивания на том же или аналогичном уровне в пределах экспериментальной ошибки нераковой ткани молочной железы, предпочтительно полученной от того же пациента. Альтернативно или дополнительно трижды негативный рак молочной железы характеризуется отсутствием реакции на гормоны, взаимодействующие с этими рецепторами, агрессивным поведением и отчетливым характером метастазирования.

[125] В некоторых вариантах реализации LIV-1-ADC и антагонист PD-1 вводят таким образом, чтобы комбинация обеспечивала синергический или аддитивный эффект при лечении LIV-1-ассоциированного рака у пациента. Введение может осуществляться любым подходящим способом при условии, что введение обеспечивает желаемый терапевтический эффект. В предпочтительных вариантах реализации LIV-1-ADC и антагонист PD-1 вводят в течение одного и того же цикла терапии, например, в течение одного цикла терапии, например, в течение периода трех или четырех недель.

[126] Введение LIV-1-ADC и антагониста PD-1 может быть парентеральным, внутривенным, пероральным, подкожным, интраартериальным, интракраниальным, интратекальным, интраперитонеальным, местным, интраназальным или внутримышечным. В различных вариантах реализации LIV-1-ADC вводят путем интраперитонеальной инъекции. В другом варианте реализации LIV-1-ADC вводят путем внутривенной инъекции. Предполагается, что антагонист PD-1, например, антитело против PD-1, такое как пембролизумаб, вводят внутривенно или подкожно. Введение также может быть локализовано непосредственно в опухоли. Введение в системный кровоток путем внутривенного или подкожного введения является предпочтительным. Внутривенное введение может осуществляться, например, путем инфузии в течение периода, такого как 30-90 мин, или путем однократной болюсной инъекции.

[127] Частота введения может представлять собой один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели, ежемесячно, ежеквартально или с нерегулярными интервалами в ответ на изменения в состоянии пациента или прогрессирование рака, подвергаемого лечению. В варианте реализации один или оба агента комбинации вводят один раз каждые три недели. В другом варианте реализации один или оба агента комбинации вводят один раз каждые четыре недели. Для подкожного введения примерная частота дозирования составляет от ежедневного до ежемесячного, хотя также возможно более или менее частое дозирование.

[128] В различных вариантах реализации терапию антагонистами LIV1-ADC и PD-1 проводят в течение по меньшей мере 3 циклов и до 6, 8 или 10 циклов, например, от 3 до 6 циклов, или от 3 до 8 циклов, или в течение 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 циклов. В различных вариантах реализации цикл представляет собой трехнедельный цикл.

[129] В различных вариантах реализации терапию LIV-1-ADC, например ладиратузумаб ведотин, вводят путем внутривенной инфузии в течение примерно 30 минут. В различных вариантах реализации антитело против PD-1 вводят путем внутривенной инфузии в течение примерно 30 минут или примерно 60 минут.

[130] В различных вариантах реализации настоящее изобретение относится к

способу лечения субъекта с неоперабельным местнораспространенным или метастатическим (LA/M) трижды негативным раком молочной железы (TNBC), который ранее не получал цитотоксическую терапию, включающему введение эффективного количества композиции, содержащей ладиратузумаб ведотин (A) и антитело против PD-1, где ладиратузумаб ведотин вводят в дозе 2,0 или 2,5 мг/кг, антитело против PD-1 вводят в дозе 100-300 мг/доза, и необязательно, где ладиратузумаб ведотин вводят в течение 30 минут или 1 часа после терапии против PD-1. В различных вариантах реализации LIV-1-ADC вводят один раз в 3 недели. В различных вариантах реализации LIV-1-ADC вводят один раз в неделю. В различных вариантах реализации терапию против PD-1 вводят один раз в 3 недели.

[131] В различных вариантах реализации настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта с неоперабельным местнораспространенным или метастатическим (LA/M) трижды негативным раком молочной железы (TNBC), который ранее не получал цитотоксическую терапию, включающему введение эффективного количества композиции, содержащей ладиратузумаб ведотин (A) и антитело против PD-1, где ладиратузумаб ведотин вводят в дозе 1,0 мг/кг, 1,25 мг/кг или 1,75 мг/кг, антитело против PD-1 вводят в дозе 100-300 мг/доза, и необязательно, где ладиратузумаб ведотин вводят в течение 30 минут или 1 часа после терапии против PD-1. В различных вариантах реализации LIV-1-ADC вводят один раз в неделю. В различных вариантах реализации LIV-1-ADC вводят один раз в 3 недели. В различных вариантах реализации терапию против PD-1 вводят один раз в 3 недели.

[132] В различных вариантах реализации LIV-1 ADC вводят в дни 1, 8 и 15 трехнедельного цикла, а пембролизумаб вводят в день 1 каждого трехнедельного цикла. В различных вариантах реализации антитело против LIV-1 в LIV-1-ADC представляет собой антитело hLIV22.

[133] В различных вариантах реализации предполагается, что LIV-1 ADC вводят в дозе 1,0, 1,25, 1,5, 1,75 мг/кг, 2,0 или 2,5 мг/кг субъектам с солидными опухолями, такими как немелкоклеточная карцинома легкого (NSCLC) (плоскоклеточная и неплоскоклеточная), мелкоклеточный рак легкого, аденокарцинома желудка, аденокарцинома пищеводно-желудочного соединения (GEJ), плоскоклеточная карцинома пищевода и плоскоклеточная карцинома головы и шеи. Необязательно лечение проводят антагонистом PD-1, таким как антитело против PD-1, как описано в настоящем документе. LIV-1-ADC можно вводить еженедельно или каждые три недели.

[134] Предполагается, что описанные в настоящем документе способы уменьшают размер опухоли и/или опухолевую массу у субъекта и/или уменьшают метастазирование у субъекта.

[135] В различных вариантах реализации способы уменьшают размер опухоли примерно на 10%, 20%, 30% или более. Снижение биологической активности может составлять примерно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100%.

[136] В различных вариантах реализации способы снижают способность опухоли к росту и приводят к стабильному заболеванию, как это определено стандартными методологиями в данной области техники, включая RECIST (критерии оценки ответа в солидных опухолях) и irRC (критерии иммунного ответа).

[137] Также измеряют влияние LIV-1 ADC или LIV1-ADC+антагониста PD-1, например, антитела против PD-1, на микроокружение опухоли (TME), инфильтрат иммунных клеток, продукцию цитокинов и уровни мРНК. Эти биомаркеры измеряют с помощью иммуногистохимии, анализа мРНК с использованием GeneSeq или другого способа, известного в данной области техники, ELISA, анализа FACS и других процедур, доступных в данной области техники.

[138] Анализ микроокружения опухоли может включать измерение иммунных клеток в месте опухоли или вокруг него, например, макрофагов, моноцитов, дендритных клеток (ДК) (включая обычные ДК), естественных киллеров (NK), CD4+ Т-клеток, CD8+ Т-клеток, регуляторных CD4+ Т-клеток, эффекторных CD4+ Т-клеток памяти, регуляторных CD8+ Т-клеток и/или PD-L1+ клеток. Микроокружение опухоли также анализируют на предмет изменения белков внеклеточного матрикса и/или внеклеточного ремоделирования в месте расположения опухоли или рядом с ним до и после лечения, включая коллагены (коллагены I, II, III, V, IX и XI), гепарансульфатные протеоглики и фибронектин. Анализ микроокружения опухоли может также включать измерение цитокинов и хемокинов.

[139] Уровни МНС, экспрессированные на клетках опухоли, костимулирующих молекул (CD80 и CD86) и продукцию цитокинов и хемокинов также измеряют до и после лечения LIV-1-ADC или LIV-1-ADC и антагонистом PD-1, например, антителом против PD-1. Цитокины включают IFN- γ , TNF- α , TGF- β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-13, IL-17, IL-18, IL-21, IL-22, IL-23, IL-32 и IL-33. Хемокины включают CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12.

[140] Также определяют гены, которые по-разному экспрессируются до и после лечения, и также может быть определена их корреляция с эффективностью. Например, гены, связанные с иммунными клетками или функцией иммунных клеток, могут экспрессироваться по-разному, например, SIGLEC1, MS4A4A, CD163, CXCL12 и/или APOE. В различных вариантах реализации гены активации иммунитета представляют собой HLA-DMA, HLA-DOA и IL-18.

[141] Ассоциированные с опухолью антигены также могут по-разному экспрессироваться в результате описанного в настоящем документе лечения.

Составы

[142] Для введения антител или рассматриваемых в настоящем документе конъюгатов антитело-лекарственное средство можно использовать различные системы доставки. В некоторых вариантах реализации введение конъюгата антитело-лекарственное средство осуществляется путем внутривенной инфузии. В некоторых вариантах реализации введение осуществляют путем внутривенной инфузии в течение 30 минут, 1 часа, 90 минут или двух часов. В различных вариантах реализации введение соединения

антитела осуществляют путем внутривенной инфузии. В различных вариантах реализации введение осуществляют путем внутривенной инфузии в течение 30 минут, 1 часа, 90 минут или двух часов.

[143] Антитело или соединение конъюгата антитело-лекарственное средство можно вводить в виде фармацевтической композиции, содержащей один или более из фармацевтически совместимых ингредиентов. Например, фармацевтическая композиция, как правило, содержит один или более из фармацевтически приемлемых носителей, например, носителей на водной основе (например, стерильных жидкостей). Вода является более типичным носителем при внутривенном введении фармацевтической композиции.

[144] При желании композиция также может содержать, например, соли физиологического раствора, буферы, соли, неионогенные детергенты и/или углеводы. Примеры подходящих фармацевтических носителей описаны в "Remington's Pharmaceutical Sciences", E. W. Martin. Составы соответствуют способу применения.

[145] В настоящем изобретении предложены, например, фармацевтические композиции, содержащие терапевтически эффективное количество конъюгата антитело-лекарственное средство, буферный агент, необязательно криопротектор, необязательно наполнитель, необязательно соль и необязательно поверхностно-активное вещество. В композицию можно добавлять дополнительные агенты. Один агент может выполнять несколько функций. Например, углевод, например, трегалоза, может действовать как в качестве криопротектора, так и в качестве наполнителя. В соответствии с настоящим изобретением можно применять любые подходящие фармацевтически приемлемые буферные агенты, поверхностно-активные вещества, криопротекторы и наполнители.

[146] Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению, содержащие ADC или антитела, описанные в настоящем документе в качестве активного ингредиента, могут содержать фармацевтически приемлемые носители или добавки в зависимости от пути введения. Примеры таких носителей или добавок включают воду, фармацевтически приемлемый органический растворитель, коллаген, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, карбоксивиниловый полимер, карбоксиметилцеллюлозу натрия, полиакрилат натрия, альгинат натрия, водорастворимый декстран, карбоксиметилкрахмал натрия, пектин, метилцеллюлозу, этилцеллюлозу, ксантановую камедь, гуммиарабик, казеин, желатин, агар, диглицерин, глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, вазелин, парафин, стеариловый спирт, стеариновую кислоту, человеческий сывороточный альбумин (HSA), маннит, сорбит, лактозу, фармацевтически приемлемое поверхностно-активное вещество и тому подобное. Используемые добавки выбраны из вышеперечисленных или их комбинаций, в зависимости от лекарственной формы согласно настоящему изобретению, но не ограничиваются ими.

[147] Состав фармацевтической композиции будет варьироваться в зависимости от выбранного пути введения (*например*, раствор, эмульсия). Подходящая композиция, содержащая антитело или ADC для введения, может быть приготовлена в физиологически приемлемой среде или носителе. Для растворов или эмульсий подходящие носители

включают, например, водные или спиртовые/водные растворы, эмульсии или суспензии, включая физиологический раствор и буферные среды. Парентеральные носители могут включать раствор хлорида натрия, декстрозу Рингера, декстрозу и хлорид натрия, лактат Рингера или нелетучие масла. Внутривенные носители могут включать различные добавки, консерванты или восполнители жидкости, питательных веществ или электролитов.

[148] Различные водные носители, *например*, стерильные забуференные фосфатом солевые растворы, бактериостатическая вода, вода, забуференная вода, 0,4% физиологический раствор, 0,3% глицин и т.п., и могут включать другие белки для повышения стабильности, такие как альбумин, липопротеин, глобулин и т.п., подвергнутые мягким химическим модификациям и т.п.

[149] Терапевтические составы антител готовят для хранения путем смешивания ADC или антитела, имеющего желаемую степень чистоты, с необязательными физиологически приемлемыми носителями, вспомогательными веществам и или стабилизаторами (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)), в виде лиофилизированных составов или водных растворов. Приемлемые носители, вспомогательные вещества или стабилизаторы являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и включают буферы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония, хлорид гексаметония, хлорид бензалкония, хлорид бензетония, фенол, бутиловый или бензиловый спирт, алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен, катехол, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол и м-крезол); низкомолекулярные (менее примерно 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, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (*например*, комплексы Zn-белок); и/или неионогенные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, PLURONICS™ или полиэтиленгликоль (PEG).

[150] В различных вариантах осуществления составы конъюгата антитело-лекарственное средство, включая составы конъюгата лекарственного средства, были подвергнуты лиофилизации или другим способам сохранения белка, а также составы антитела-лекарственного средства, которые не подвергались лиофилизации.

[151] Составы, используемые для введения *in vivo* , должны быть стерильными. Это легко достигается путем фильтрации через стерильные фильтрационные мембраны. Фармацевтические композиции могут быть в форме стерильной водной, маслянистой суспензии для инъекций, дисперсии или стерильного порошка для немедленного приготовления стерильных растворов или дисперсий для инъекций. Суспензия может

быть приготовлена в соответствии с известным уровнем техники с использованием тех подходящих диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов, которые были упомянуты выше. Стерильный инъекционный препарат также может представлять собой стерильный инъекционный раствор или суспензию в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, например, раствор в 1,3-бутандиоле. Носителем может быть растворитель или дисперсионная среда, содержащая, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль и тому подобное), их подходящие смеси, растительные масла, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, в качестве растворителя или суспендирующей среды традиционно используют стерильные, нелетучие масла. Для этой цели можно использовать любое нераздражающее нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, при приготовлении инъекционных форм используют жирные кислоты, такие как олеиновая кислота.

[152] Водные суспензии могут содержать активное соединение в смеси с вспомогательными веществами, подходящими для приготовления водных суспензий. Такие вспомогательные вещества представляют собой суспендирующие агенты, например, карбоксиметилцеллюлозу натрия, метилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, альгинат натрия, поливинилпирролидон, трагакантовую камедь и аравийскую камедь; диспергирующие или смачивающие агенты могут представлять собой встречающийся в природе фосфатид, например лецитин, или продукты конденсации алкиленоксида с жирными кислотами, например полиоксиэтиленстеарат, или продукты конденсации этиленоксида с длинноцепочечными алифатическими спиртами, например гептадекаэтиленоксицетанол, или продукты конденсации этиленоксида с неполными сложными эфирами, полученными из жирных кислот и гексита, такие как моноолеат полиоксиэтиленсорбита, или продукты конденсации этиленоксида с неполными сложными эфирами, полученными из жирных кислот и ангидридов гексита, например полиэтиленсорбитанмоноолеат. Водные суспензии могут также содержать один или более консервантов, например этил или н-пропил, п-гидроксибензоат.

Наборы

[153] В настоящем изобретении также предложены наборы для лечения рака, экспрессирующего LIV-1. Набор может включать (а) контейнер, содержащий конъюгат антитело-лекарственное средство, и, необязательно, контейнеры, содержащие один или более антагонистов PD-1, таких как антитела к PD-1, и, необязательно, дополнительные химиотерапевтические средства. Такие наборы при желании могут дополнительно содержать один или более из различных компонентов обычных фармацевтических наборов, например, контейнеры с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями, дополнительные контейнеры и т.д., что очевидно для специалистов в данной области техники. В набор также можно включать печатные инструкции в виде вкладышей или этикеток с указанием количества вводимых компонентов, указания по применению

и/или указания по смешиванию компонентов.

Пример 1

[154] LV-индуцированная иммуногенная гибель клеток (ICD) вызывает воспалительную реакцию и увеличивает инфильтрацию опухолевых иммунных клеток (Schmid et al., N Engl J Med. 2018; 379(22): 2108-21). Предполагается, что LV-индуцированная ICD создает микросреду, благоприятную для повышенной активности ингибиторов контрольных точек. Чтобы определить, является ли комбинированная терапия LV и антагонистами PD-1 безопасной и эффективной, было проведено отдельное открытое исследование фазы 1b/2, сочетающее LV+пембролизумаб у пациентов с неоперабельным местнораспространенным или метастатическим (LA/ M) трижды негативным раком молочной железы (TNBC), которые ранее не получали цитостатическую терапию по поводу заболевания на поздней стадии.

[155] В Части А было проведено исследование по подбору дозы для определения доз LV и пембролизумаба, которые могут быть безопасными при комбинировании. Пациентам вводили LV в дозе 2,5 мг/кг или 2,0 мг/кг в комбинации с пембролизумабом в дозе 200 мг/кг еженедельно в течение трех недель (Q3wk). В части В в фазу подъема доз были включены дополнительные пациенты, которые следовали тому же режиму введения.

[156] Пациентов лечили при соблюдении следующих критериев:

- Метастатический или местно-распространенный, подтвержденный гистологически TNBC (отсутствие экспрессии HER2, ER и PR в соответствии с руководством ASCO 2014 г.)
- Отсутствие предшествующей цитотоксической терапии для лечения нерезектабельного LA/M BC
- Отсутствие предшествующей анти-PD(L)1 терапии
- ≥ 6 месяцев после последнего лечебного (нео)адьювантного лечения
- Измеряемое заболевание согласно RECIST v1.1
- ECOG 0 или 1
- Соответствует базовым критериям лабораторных испытаний
- Возможность предоставить образцы тканей для анализа биомаркеров
- Невропатия $\leq$ степени (Gr) 2
- Адекватное лечение метастазов в ЦНС и отсутствие кортикостероидов

[157] Возраст, пол и ECOG в целом соответствуют популяциям TNBC в других исследованиях. Меньшее количество пациентов было включено в группу больных MTNBC de novo по сравнению с недавно опубликованными рандомизированными исследованиями TNBC первой линии (Kim et al., Lancet Oncol. 2017; 18(10): 1360-1372; Yardley et al., Annals of Oncology. 2018; 19: 1763-1770; Brufsky et al., J Clin Oncol 37(Suppl 15): Abstract 1013; Cortes et al., Ann Oncol 30(Suppl 5): v859-60). Субъекты были исключены, если они ранее проходили иммуноонкологическую терапию, имели ранее существовавшую невропатию по меньшей мере 2 степени, имели активные метастазы в центральную нервную систему (ЦНС) и/или перенесли активное аутоиммунное

заболевание, требующее системного лечения в течение последних 2 лет.

Таблица 2: Характеристики субъекта

	N=77 ^a
Медианный возраст в годах (мин, макс)	56 (30-82)
Женский пол, n (%)	77 (100%)
Общее состояние по ECOG, n (%)	
0	37 (48%)
1	40 (52%)
de novo TNBC, n (%)	17 (22%)
Интервал между (нео)адьювантом и 1л терапией, n (%)	
>12 месяцев	40 (52%)
6-12 месяцев	15 (19%)
Гистология опухоли, n (%)	
Инвазивная карцинома протока	52 (68%)
Инвазивная лобулярная карцинома	4 (5%)
Другие	21 (27%)
Метастазы в печень на исходном уровне, n (%)	16 (21%)
Метастазы в легкое на исходном уровне, n (%)	41 (53%)

[158] Конъюгат антитело-лекарственное средство LV вводили в дозе 2,5 или 2,0 мг/кг внутривенно каждые 3 недели в течение приблизительно 30 минут. Пембролизумаб вводили по 200 мг внутривенно каждые 3 недели в течение приблизительно 30 минут. Профилактическое введение G-CSF требовалось при получении LV ≥ 200 мг на цикл. Для пациентов проводили анализ с помощью биопсии опухоли на исходном уровне (части А и В), экспрессии C1D5 (часть А) и экспрессии C1D15 (часть В).

[159] Первичные конечные точки исследования включали объективную частоту ответов (ORR) RECIST v1.1 и безопасность. Вторичные конечные точки включают продолжительность ответа (DOR), выживаемость без прогрессирования (PFS), общую выживаемость (OS) и PK/PD антител.

[160] В части А ни один субъект (0/7) не испытал дозоограничивающей токсичности (DLT) при 2,0 мг/кг LV и 200 мг пембролизумаба, а 2/12 субъектов испытали DLT при 2,5 мг/кг LV и 200 мг пембролизумаба, проявляя либо колит 3 степени либо диарею 3 степени.

[161] Нежелательные явления. Нежелательные явления, связанные с лечением, были минимальными, новых сигналов безопасности при применении комбинации не наблюдалось. Большинство НЯ являлись по степени тяжести от легкой до умеренной (степень 1-2) и включали тошноту, утомляемость и алопецию (Таблица 3). Наиболее частыми тяжелыми (3-4 степени) НЯ были нейтропения (14%), а наиболее частыми тяжелыми НЯ были боль в животе (5%), колит (4%) и лихорадка (4%). Наиболее частыми нежелательными явлениями, связанными с приемом пембролизумаба в комбинации, были макуло-папулезная сыпь (9%), диарея (6%), колит (4%) и зуд (4%), которые по частоте были сходны с таковыми при монотерапии пембролизумабом (USPI). Нежелательных явлений 5 степени, связанных с лечением, не было.

Таблица 3. НЯ, связанные с лечением, у >20% пациентов

Предпочтительный термин	Всего (N=77) ^b
	Все степени
	Gr≥3 ^c
Тошнота	45 (58%)
Утомляемость	40 (52%)
Алоpecia	38 (49%) ^d
Диарея	31 (40%)
Снижение аппетита	25 (32%)
Периферическая сенсорная нейропатия	23 (30%)
Рвота	17 (22%)

Связано либо с LV, либо с пембролизумабом по мнению исследователя

LV 2,5 мг/кг: n=59; LV 2,0 мг/кг: n=18

Нет событий 4 степени для перечисленных НЯ

Алоpecia Gr2: 27%

[162] Наиболее частыми НЯ, приводящими к снижению дозы ЛВ, были периферическая невропатия (9%) и боль в животе (3%). Наиболее частым НЯ, приведшим к отмене дозы, была периферическая невропатия (3%). Частота прекращения лечения НЯ составила 14% для LV и 13% для пембролизумаба (таблица 4).

Таблица 4: Показатели снижения и прекращения приема

	Снижение ^a	Прекращение LV и пембролизумаба
LV 2,5 мг/кг+пембролизумаб (N=77), n (%)	или 2,0 21 (27%)	8 (10%)

Снижение дозы применяется только к LV

[163] Результаты показывают, что LV+пембролизумаб позволил достичь подтвержденной объективной частоты ответов 35% по данным RECIST v1.1. Стабильное течение заболевания наблюдалось у 32 человек (48%). Из испытываемой популяции 4 субъекта (6%) имели частичный ответ (PR) или полный ответ (CR) в ожидании подтверждающего сканирования, 10 субъектов (15%) имели лучший ответ PR, не подтвержденный (8 прекратили лечение из-за прогрессирующей болезнм, 2 отказа от лечения из-за НЯ), и у 18 субъектов (27%) наблюдалось SD. О прогрессировании заболевания сообщалось как о лучшем ответе для 8 субъектов (12%), при этом лучший общий ответ (подтвержденный и неподтвержденный) составил 56% (таблица 5).

Таблица 5: Частота ответов

	Всего (N=66) ^a
Подтвержденный ORR, % (95% CI) ^b	35% (23,5, 47,6)
CR подтвержденный	2 (3%)
PR подтвержденный	21 (32%)
SD	32 (48%)
PD	8 (12%)
Невозможно оценить/не выполнено	3 (5%)

Все субъекты, для которых дата C1D1 составляла не менее чем за 3 месяца до извлечения данных.

Наилучший общий ответ представляет собой долю субъектов, достигших либо подтвержденного, либо неподтвержденного PR или CR по оценке исследователя с использованием RECIST v1.1. Субъекты без какой-либо оценки опухоли после исходного уровня считаются не ответившими на лечение.

[164] Анализ опухолевой массы после лечения показывает, что > 90% субъектов достигли уменьшения опухоли (Фигура 1). Популяция, поддающаяся оценке эффективности, включает всех субъектов, получавших лечение, для которых имеется по меньшей мере одна оцениваемая полученная после оценки исходного состояния оценка, в соответствии с RECIST v1.1, или тех, кто прекратил участие в исследовании (N=69). Из популяции, поддающейся оценке эффективности, 5 субъектов не имели оцениваемых оценок ответа до прекращения исследования.

[165] Опухолевую нагрузку измеряли на основе изменения размера опухоли во времени лечения. 45% испытуемых добились ответа при 1^{-й} оценке. Среднее время до первого ответа составило 1,4 месяца, при этом средняя продолжительность ответа составила 4,4 месяца (минимум, максимум: 1,4+, 8,4+) и среднее время наблюдения 3,7 месяца (Фигура 2).

[166] Субъекты с метастатическим трижды негативным раком молочной железы de novo первой линии (1L) (MTNBC) составляют 22% исследуемой популяции. ORR был выше у пациентов de novo по сравнению с пациентами, ранее получавшими лечение, от 69% до 26% соответственно, и у большинства пациентов de novo был достигнут стойкий контроль над опухолью, начиная с 5 месяцев до 10 месяцев (Фигура 3).

[167] Оценивали уровни PD-L1 на опухолях. 38 образцов опухолей дали результаты статуса PD-L1 (Dako 22C3), при этом 35% PD-L1 были положительными, а 40% образцов PD-L1 отрицательными. Частота положительных результатов на PD-L1 соответствует данным недавно опубликованных исследований пембролизумаба по TNBC (Schmid et al., Ann Oncol 30(Suppl 5): v853-4). Ответы последовательно наблюдались в зависимости от статуса PD-L1. Предварительный анализ не показал различий в частоте ответов на основе экспрессии LIV-1 (Таблица 6).

Таблица 6: Частота ответов на основе экспрессии PD-L1

	PD-L1 положительный (CPS≥1) (N=23)	PD-L1 негативный (CPS<1) (N=15)	PD-L1 неизвестен (N=28)
Подтвержденный ORR % (95% CI)	35% (16,4 57,3)	40% (16,3 67,7)	32% (15,9 52,4)

[168] Выводы: LV в комбинации с пембролизумабом является безопасной и переносимой терапией первой линии при MTNBC. Как LV, так и пембролизумаб можно вводить в дозах, используемых в исследованиях монотерапии. Никаких новых сигналов безопасности при применении комбинации не наблюдалось, а профиль нежелательных

явлений был переносимым и управляемым.

[169] Эффективность комбинации обнадеживает, показывая, что ORR составил 35% в исследуемой популяции и 69% у субъектов с *de novo* MTNBC. Более 90% субъектов достигли уменьшения опухоли, и 45% ответов произошли при 1-й оценке ответа. Небольшое меньшинство (12%) субъектов продемонстрировало прогрессирование заболевания в качестве лучшего ответа. Тем не менее, продолжительность лечения у субъектов с *de novo* MTNBC является многообещающей и неожиданной. Оценка биомаркеров показала, что частота ответов была постоянной независимо от статуса PD-L1. Субъекты продолжают находиться под наблюдением в отношении продолжительности ответа, PFS и OS.

Пример 2

[170] В целях повышения эффективности и улучшения профиля переносимости проводили оценку еженедельного введения LV с пембролизумабом. Проводили однокрупное открытое исследование фазы 1b/2 LV в комбинации с пембролизумабом в качестве терапии первой линии для пациентов с нерезектабельным местнораспространенным или mTNBC (CT.gov: NCT03310957, EudraCT: 2017-002289-35) для оценки безопасности и эффективности LV в дозе 1,00 или 1,25 мг/кг/неделю в 1, 8 и 15 дни+пембролизумаб 200 мг в 1 день каждого цикла. Приблизительно 24 пациента включены в еженедельные когорты LV. Пациенты не должны ранее получать цитотоксическое лечение или лечение анти-PD(L)1 по поводу заболевания на поздней стадии, иметь измеримое заболевание по RECIST v1.1 и балл ECOG 0 или 1.

[171] Основными задачами являются оценка безопасности/переносимости и объективной частоты ответа на еженедельную терапию посредством LV+пембролизумаба. Второстепенные задачи включают оценку DOR, DCR, PFS и OS.

Пример 3

[172] LIV-1 участвует в передаче сигналов, которые способствуют метастазированию раковых клеток (Lue et al, PLOS One, 6: e27720; 2011), и клинически экспрессия LIV-1 в опухолях связана с метастазированием (Manning et al, EJC, 5: 675-678; 1994). Исследование фазы 2 проводили для оценки эффектов LIV-1-ADC при солидных опухолях, таких как немелкоклеточный рак легкого (NSCLC) (плоскоклеточный и неплоскоклеточный), мелкоклеточный рак легкого, аденокарцинома желудка/GEJ, плоскоклеточная карцинома пищевода и плоскоклеточная карцинома головы и шеи.

[173] В Фазе 2 субъекты глобального исследования с одной группой, имеющие нерезектабельные местно-распространенные/метастатические солидные опухоли, такие как мелкоклеточный рак легкого или NSCLC, плоскоклеточный или неплоскоклеточный, получали 2,5 мг/кг LIV1-ADC каждые три недели, или в исследовании дозирования их лечили различными дозами LIV1-ADC для определения терапевтической безопасности, например, 1,0 мг/кг или 1,25 мг/кг, вводимыми еженедельно.

[174] Подходящие пациенты с мелкоклеточным раком легкого имели: распространенную стадию заболевания, измеримое заболевание в соответствии с RECIST

1.1, ≤ 1 линию предшествующей химиотерапии на основе платины для распространенной стадии заболевания; ранее получавшие анти-PD(L)1-терапию, если она соответствовала критериям, нейропатию $\leq \text{Gr}2$, и пациенты со смешанным SCLC/нейроэндокринным с гистологическим исследованием NSCLC не соответствовали критериям.

[175] Подходящие пациенты с NSCLC, например, с плоскоклеточным или неплоскоклеточным NSCLC, имели: нерезектабельное местно-распространенное или метастатическое заболевание, измеримое заболевание по RECIST 1.1, ≤ 1 линию предшествующей химиотерапии на основе платины для заболевания на поздней стадии, прогрессирование во время или после химиотерапии для заболевания на поздней стадии, или в течение 6 мес после последней дозы химиотерапии с лечебной целью, получавшие лечение по поводу исключенных действенных мутаций, ранее получавшие анти-PD(L)1 терапию, если нет противопоказаний, и демонстрирующие невропатию $\leq \text{Gr}2$.

[176] Первичные конечные точки включали объективную частоту ответов (ORR), а вторичные конечные точки включали безопасность, DoR, PFS и OS. Биомаркеры также оценивали на наличие изменений в результате лечения LIV1-ADC.

Пример 4

[177] Чтобы определить влияние лечения LIV1-ADC и антителом против PD-1 на клеточную активность и экспрессию генов в опухолях, было проведено коррелятивное исследование биомаркеров для оценки способности LIV-1-ADC (LV) модулировать микроокружение опухоли (TME) у пациентов с трижды негативным раком молочной железы (TNBC).

[178] Пациенты с местнораспространенным или метастатическим TNBC были включены в LVA-001 (монотерапия LV, 2~2,5 мг/кг, каждые 3 недели [q3w]) и LVA-002 [LV плюс пембролизумаб (анти-PD-1) 200 мг, q3w]. Биоптаты опухоли собирали в начале исследования и после первой дозы лечения (цикл 1, день 5 (C1D5) в LVA-001; C1D5 или C1D15 в LVA-002. Экстракцию РНК и секвенирование РНК проводили для изучения экспрессии генов до и после лечения. Дифференциальную экспрессию генов оценивали с использованием пакета DESeq2 (Love et al., (2014) *Genome Biology*, 15: 550). Анализ геной онтологии (GO) был проведен с использованием пакета TopGO R (Alexa A, Rahnenfuhrer J (2020). topGO: Enrichment Analysis for Gene Ontology. R package version 2.40.0) с использованием критерия Фишера в комбинации с алгоритмом подсчета «массы» для оценки значительно обогащенных узлов биологических процессов. Оценку потенциального обогащения типов клеток проводили с использованием способа xCell (Aran, et al., *Genome Biology* (2017) 18:220), реализованного в R. Если не указано иное, коэффициенты ложных открытий (FDR) для сравнений экспрессии отдельных генов рассчитывали с помощью способа Бенджамини-Хохберга и р-величины DESeq. Иммуногистохимическую оценку (ИHC) проводили для измерения уровней CD8, CD68 и PD-L1 (22C3) у субъектов. Комбинированную положительную оценку (CPS) оценивали в соответствии с руководством по интерпретации Agilent PD-L1 ИHC 22C3 pharmDx.

[179] Для RNAseq (N=59) использовали парные исходные биопсии и биопсии во

время лечения (C1D5) из LVA-001 (монотерапия LV). Дифференциальную экспрессию оценивали, сравнивая парные профили исходной линии-C1D5 RNAseq. Дифференциально экспрессируемые гены (Фигура 4) идентифицировали с использованием пороговых значений кратности изменения и значимости (абсолютная кратность изменения > 2 , скорректированная р-величина/FDR $< 0,01$). 59 генов с повышенной экспрессией были идентифицированы при C1D5, и 15 генов с пониженной экспрессией при C1D5. Некоторые из наиболее дифференциально экспрессируемых генов (SIGLEC1, MS4A4A, CD163) связаны с функцией макрофагов. Гены, дифференциально экспрессируемые при FDR $<1e-7$, показаны с метками на Фигуре 4 и включают маркеры макрофагов, такие как SIGLEC1, CD163 and MS4A4A, а также APOE, CXCL12, MRO и PDK4.

[180] Анализ показывает, что терапия LV увеличивает инфильтрацию макрофагов, индуцирует МНС, костимулирующие молекулы и экспрессию PD-L1. ИHC проводили для определения окрашивания макрофагов (CD68) и PD-L1 (22C3) в биоптатах опухоли на исходном уровне и C1D5 пациента с LVA-001. На Фигуре 5A-5B показаны результаты ИHC CD68 (% клеток, положительных на CD68 в строме опухоли) и оценки CPS PD-L1 у всех пациентов LVA-001 с образцами, подлежащими оценке (N=79 для CD68; N=73 для PD-L1), показывая, что пролеченные пациенты имеют более высокие уровни окрашивания CD68 и PD-L1 в опухоли. На Фигуре 5C показана индукция генов МНСII (HLA-DRB1 и HLA-DQA1) и костимулирующих молекул (CD80 и CD86) с помощью анализа RNAseq (N=59), каждый из которых, по-видимому, увеличивается у получавших лечение субъектов. Также наблюдалась значительная индукция генов МНСI, воспалительных цитокинов и общее увеличение показателя воспаления опухоли. Эти результаты демонстрируют, что монотерапия LV индуцирует иммунную активацию при TME у больных раком молочной железы.

[181] Эффекты LV и пембролизумаба на иммунную активацию у пациентов с раком молочной железы TME также оценивали в LVA-002. Парный исходный уровень и уровень лечения (C1D15) из исходного набора данных использовали для RNAseq (N=16). Дифференциальную экспрессию генов оценивали путем сравнения парных исходных профилей C1D15 RNAseq (Фигура 6). Дифференциально экспрессируемые гены идентифицировали с использованием пороговых значений кратности изменения и значимости (абсолютная кратность изменения > 2 , скорректированная р-величина/FDR $< 0,01$). 342 гена с повышенной активностью были идентифицированы на C1D15 и 192 гена с пониженной регуляцией на C1D15. ZEB2, L1TD1, DNAJC5B, GAB3, C11orf21 и TRGV3 активировались при FDR $<1e-7$ (Фигура 6, показано с метками). Анализ ИHC показал повышенную инфильтрацию CD3 $^{+}$ и CD8 $^{+}$ Т-клеток, макрофагов CD68 $^{+}$ и повышенное окрашивание PD-L1 в биопсии C1D5 по сравнению с исходной биопсией, взятой у пациента LVA-002.

[182] Дальнейший анализ клеточных биомаркеров проводили путем сравнения уровней РНК и инфильтрата иммунных клеток с помощью иммуногистохимии. Сравнение уровней РНК на инфильтрирующих опухоль иммунных клетках (макрофаги, DC и CD8 Т-

клетки) и экспрессии гена CD274 (PD-L1) в LVA-001 (только LV) и LVA-002 (LV+пембролизумаб) показывает увеличение макрофагов и Т-клеток CD8 у получавших лечение субъектов по сравнению с исходным уровнем (Фигура 7). Для PD-L1 FDR получен из анализа дифференциальной экспрессии, сравнивающего C1D5/C1D15 и исходный уровень. N=59 для LVA-001; N=16 для LVA-002. Это показывает более сильную индукцию сигнатур Т-клеток DC и CD8 у субъектов, получавших лечение LV+пембролизумаб, с помощью анализа РНК. Инфильтрирующие опухоль иммунные клетки (CD3+ и CD8+ Т-клетки, CD68+) и окрашивание CD274 (PD-L1) у субъектов LVA-001 и LVA-002 также проводили с помощью ИНС. Биопсии во время лечения были собраны вокруг C1D5 в LVA-001 и вокруг C1D5 или C1D15 в LVA-002. На Фигурах 8А и 8В показано, что существует более сильная индукция CD8 TIL при лечении LV+пембролизумаб в C1D15.

[183] Изменение сигнатуры гена и клеточного инфильтрата затем оценивали на предмет влияния на клинический ответ, например, у субъектов, характеризующихся как ответившие на лечение, включая частичный ответ (PR) или полный ответ (CR), и не ответившие на лечение, включая пациентов со стабильным заболеванием (SD) или прогрессирующим заболеванием (PD). Индуцированное лечением LV+пембролизумаб увеличение CD4 Т-клеток и DC в опухоли связано с клиническим ответом (LVA-002). Анализ сигнатуры генов xCell данных RNAseq показал, что индукция генов, связанных с CD4 Т-клетками (особенно эффекторными CD4 Т-клетками памяти (EM)) и обычными DC (cDC), связана с клиническими ответами (Фигура 9). В полной модели оценку xCell рассматривали как зависящую от ответа, момента времени и взаимодействия этих двух функций. В более простой вложенной модели оценку xCell рассматривали как зависящую только от ответа и момента времени. Таким образом, полученный в результате критерий отношения правдоподобия оценивал важность взаимодействия между временем и ответом, а также связь со значениями сигнатуры xCell. Более значительная р-величина указывает на то, что сигнатуры xCell ведут себя по-разному с течением времени между ответившими и не ответившими на лечение.

[184] Индукция генов МНС и IL-18 связана с клиническими ответами у субъектов, получавших лечение (Фигура 10). Термин, проверенный между этими двумя моделями, представляет собой взаимодействие между моментом времени и откликом. Всего наблюдалось 93 гена, которые по-разному регулируются ($FDR < 0,05$) во времени между ответившими и не ответившими на лечение, что позволяет предположить, что у пациентов с опухолями, которые отвечают на терапию, получающих LV+пембролизумаб, наблюдается более высокая индукция МНС и воспалительных цитокинов.

[185] В настоящем документе показано, что монотерапия LV приводит к активации иммунитета в TME у пациентов с метастатическим TNBC со значительной индукцией инфильтрации макрофагов, увеличением МНСI/II, костимулирующих молекул, провоспалительных цитокинов/хемокинов и PD-L1. LV-индуцированные изменения TME у онкологических больных согласуются с доклиническими данными о том, что LV

индуцирует ICD. Приведенные выше результаты позволяют предположить, что комбинация LV+пембролизумаб приводит к мощной активации иммунитета в TME с активацией путей адаптивного иммунного ответа и повышенной инфильтрацией CD8 Т-клеток в дополнение к макрофагам. Предварительный анализ показал, что инфильтрация Т-клеток и DC, а также индукция генов активации иммунитета (МНС и цитокины) связаны с клиническими ответами в контексте комбинированной терапии LV и пембролизумаба.

[186] Ожидается, что специалисты в данной области техники могут предложить многочисленные модификации и изменения настоящего изобретения, изложенные в приведенных выше иллюстративных примерах. Следовательно, на настоящее раскрытие должны быть наложены только ограничения, указанные в прилагаемой формуле изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения субъекта, страдающего раком или подверженного риску возникновения рака, включающий введение субъекту конъюгата антитела LIV-1 с лекарственным средством (LIV-1-ADC) и антагониста PD-1, выбранного из группы, состоящей из антитела против PD-1 и антитела против PD-L1.
2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что субъект страдает от рака молочной железы.
3. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что рак молочной железы представляет собой трижды негативный рак молочной железы, трижды положительный рак молочной железы, HER2-положительный рак молочной железы или гормон-рецептор-положительный рак.
4. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что субъект страдает от трижды негативного рака молочной железы.
5. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что субъект страдает от неоперабельного местно-распространенного или метастатического (LA/M) трижды негативного рака молочной железы (TNBC).
6. Способ по п. 1, отличающийся тем, что субъект страдает от рака предстательной железы, рака яичников, рака эндометрия, рака поджелудочной железы, рака легких, рака шейки матки, меланомы или плоскоклеточной карциномы.
7. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что субъект ранее не получал цитотоксическую терапию.
8. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе от 1,0 мг/кг до 4 мг/кг массы тела субъекта.
9. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе 1,0 мг/кг массы тела субъекта.
10. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе 1,25 мг/кг массы тела субъекта.
11. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе 2,5 мг/кг массы тела субъекта.
12. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе 2,0 мг/кг массы тела субъекта.
13. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят один раз каждые 3 недели.
14. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят один раз в неделю.
15. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят путем внутривенной инъекции.
16. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что антагонист PD-1 представляет собой антитело против PD-1, выбранное из группы, состоящей из пембролизумаба или ниволумаба.

17. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что антагонист PD-1 представляет собой антитело против PD-1 пембролизумаб.

18. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что антагонист PD-1 представляет собой антитело против PD-1 пембролизумаб, и его вводят в дозе от 100 до 300 мг один раз каждые три недели.

19. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что антитело против PD-1 вводят путем внутривенной инфузии.

20. Способ лечения субъекта, страдающего или подверженного риску возникновения трижды негативного рака молочной железы, включающий введение субъекту конъюгата антитела LIV-1 с лекарственным средством (LIV-1-ADC) и антагониста PD-1, выбранного из группы, состоящей из антитела против PD-1 и антитела против PD-L1.

21. Способ по п. 20, отличающийся тем, что субъект страдает от неоперабельного местно-распространенного или метастатического (LA/M) трижды негативного рака молочной железы (TNBC).

22. Способ по любому из пп. 20 или 21, отличающийся тем, что субъект ранее не получал цитотоксическую терапию.

23. Способ по любому из пп. 20-22, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе от 1,0 мг/кг до 4,0 мг/кг массы тела субъекта.

24. Способ по любому из пп. 20-23, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе 1,0 мг/кг массы тела субъекта.

25. Способ по любому из пп. 20-23, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе 1,25 мг/кг массы тела субъекта.

26. Способ по любому из пп. 20-23, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе 2,5 мг/кг массы тела субъекта.

27. Способ по любому из пп. 20-23, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе 2,0 мг/кг массы тела субъекта.

28. Способ по любому из пп. 20-27, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят один раз в 3 недели.

29. Способ по любому из пп. 20-27, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят один раз в неделю.

30. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что антитело против LIV-1 в составе LIV-1-ADC представляет собой моноклональное антитело против LIV-1.

31. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что антитело против LIV-1 в составе LIV-1-ADC содержит гуманизированное антитело hLIV22.

32. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что антитело против LIV-1 в составе LIV-1-ADC содержит

i) аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную

вариабельной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 4, и

ii) аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную вариабельной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 3.

33. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что конъюгат антитело-лекарственное средство содержит монометилауристатин Е и расщепляемый протеазой линкер.

34. Способ по п. 33, отличающийся тем, что расщепляемый протеазой линкер содержит тиол-реакционноспособный спейсер и дипептид.

35. Способ по п. 33 или 34, отличающийся тем, что расщепляемый протеазой линкер состоит из тиол-реакционноспособного малеимидокапроильного спейсера, дипептида валин-цитруллин и п-аминобензилоксикарбонильного спейсера.

36. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что LIV-1-ADC представляет собой ладиратузумаб ведотин.

37. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что (i) антитело против PD-1 перекрестно конкурирует с ниволумабом или пембролизумабом за связывание с PD-1 человека; (ii) антитело против PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб или пембролизумаб; (iii) антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб; или (iv) антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб; или (v) антитело против PD-1 представляет собой вариант пембролизумаба.

38. Способ по любому из пп. 20-37, отличающийся тем, что антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб или ниволумаб.

39. Способ по любому из пп. 20-38, отличающийся тем, что антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб.

40. Способ по любому из пп. 20-38, отличающийся тем, что антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб, и его вводят в дозе от 100 до 300 мг один раз каждые три недели.

41. Способ по любому из пп. 20-38, отличающийся тем, что антитело против PD-1 вводят путем внутривенной инфузии.

42. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что рак включает одну или более клеток, которые экспрессируют PD-L1, PD-L2 или как PD-L1, так и PD-L2.

43. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что LIV-1-ADC представляет собой ладиратузумаб ведотин, и его вводят в дозе 2,5 мг/кг, а антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб, и его вводят в дозе 1-2 мг/кг или 100-300 мг один раз в три недели.

44. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что LIV-1-ADC представляет собой ладиратузумаб ведотин, и его вводят в дозе 2,0 мг/кг, а антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб, и его вводят в дозе 1-2 мг/кг или 100-300 мг один раз в три недели.

45. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что LIV-

1-ADC представляет собой ладиратузумаб ведотин, и его вводят в дозе 1,0 мг/кг, а антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб, и его вводят в дозе 1-2 мг/кг или 100-300 мг один раз в три недели.

46. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что LIV-1-ADC представляет собой ладиратузумаб ведотин, и его вводят в дозе 1,25 мг/кг, а антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб, и его вводят в дозе 1-2 мг/кг или 100-300 мг один раз в три недели.

47. Способ по любому из пп. 43-46, отличающийся тем, что пембролизумаб вводят в дозе 200 мг один раз каждые три недели.

48. Способ по любому из пп. 43-47, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят один раз каждые три недели.

49. Способ по любому из пп. 43-47, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят один раз в неделю.

50. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что LIV1-ADC вводят путем внутривенной инфузии в течение примерно 30 минут.

51. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что антитело против PD-1 вводят путем внутривенной инфузии в течение приблизительно 30 минут или приблизительно 60 минут.

52. Способ лечения субъекта, страдающего de novo от метастатического трижды негативного рака молочной железы, включающий введение субъекту конъюгата антитела LIV-1 с лекарственным средством (LIV-1-ADC) и антагониста PD-1, выбранного из группы, состоящей из антитела против PD-1 и антитела против PD-L1.

53. Способ по п. 52, отличающийся тем, что субъект ранее не получал цитотоксическую терапию.

54. Способ по п. 52 или 53, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе от 1,0 мг/кг до 4,0 мг/кг массы тела субъекта.

55. Способ по любому из п. 52 или 54, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе 1,0 мг/кг массы тела субъекта.

56. Способ по любому из п. 52 или 54, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе 1,25 мг/кг массы тела субъекта.

57. Способ по любому из пп. 52-54, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе 2,5 мг/кг массы тела субъекта.

58. Способ по любому из пп. 52-54, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе 2,0 мг/кг массы тела субъекта.

59. Способ по любому из пп. 52-58, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят один раз в 3 недели.

60. Способ по любому из пп. 52-58, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят один раз в неделю.

61. Способ по любому из пп. 52-60, отличающийся тем, что антитело против LIV-1 в составе LIV-1-ADC представляет собой моноклональное антитело против LIV-1.

62. Способ по любому из пп. 52-61, отличающийся тем, что антитело против LIV-1 в составе LIV-1-ADC содержит гуманизированное антитело hLIV22.

63. Способ по любому из пп. 52-62, отличающийся тем, что антитело против LIV-1 в составе LIV-1-ADC содержит

i) аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную варибельной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 4, и

ii) аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную варибельной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 3.

64. Способ по любому из пп. 52-63, отличающийся тем, что конъюгат антитело-лекарственное средство содержит монометилауристатин Е и расщепляемый протеазой линкер.

65. Способ по п. 64, отличающийся тем, что расщепляемый протеазой линкер содержит тиол-реакционноспособный спейсер и дипептид.

66. Способ по п. 64 или п. 65, отличающийся тем, что расщепляемый протеазой линкер состоит из тиолреактивного малеимидокапроильного спейсера, дипептида валина-цитруллина и п-амино-бензилоксикарбонильного спейсера.

67. Способ по любому из пп. 52-66, отличающийся тем, что LIV-1-ADC представляет собой ладиратузумаб ведотин.

68. Способ по любому из пп. 52-67, отличающийся тем, что (i) антитело против PD-1 перекрестно конкурирует с ниволумабом или пембролизумабом за связывание с PD-1 человека; (ii) антитело против PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб или пембролизумаб; (iii) антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб; или (iv) антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб; или (v) антитело против PD-1 представляет собой вариант пембролизумаба.

69. Способ по п. 68, отличающийся тем, что антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб или ниволумаб.

70. Способ по п. 69, отличающийся тем, что антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб.

71. Способ по любому из пп. 68-70, отличающийся тем, что антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб, и его вводят в дозе от 100 до 300 мг один раз каждые три недели.

72. Способ по любому из пп. 52-71, отличающийся тем, что антитело против PD-1 вводят путем внутривенной инфузии.

73. Способ по любому из пп. 52-72, отличающийся тем, что рак включает одну или более клеток, которые экспрессируют PD-L1, PD-L2 или как PD-L1, так и PD-L2.

74. Способ по любому из пп. 52-73, отличающийся тем, что LIV-1-ADC представляет собой ладиратузумаб ведотин, и его вводят в дозе 2,5 мг/кг, а антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб, и его вводят в дозе 1-2 мг/кг или 100-300 мг один раз в три недели.

75. Способ по любому из пп. 52-73, отличающийся тем, что LIV-1-ADC

представляет собой ладиратузумаб ведотин, и его вводят в дозе 2,0 мг/кг, а антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб, и его вводят в дозе 1-2 мг/кг или 100-300 мг один раз в три недели.

76. Способ по любому из пп. 52-73, отличающийся тем, что LIV-1-ADC представляет собой ладиратузумаб ведотин, и его вводят в дозе 1,0 мг/кг, а антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб, и его вводят в дозе 1-2 мг/кг или 100-300 мг один раз в три недели.

77. Способ по любому из пп. 52-73, отличающийся тем, что LIV-1-ADC представляет собой ладиратузумаб ведотин, и его вводят в дозе 1,25 мг/кг, а антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб, и его вводят в дозе 1-2 мг/кг или 100-300 мг один раз в три недели.

78. Способ по любому из пп. 74-77, отличающийся тем, что пембролизумаб вводят в дозе 200 мг один раз каждые три недели.

79. Способ по любому из пп. 74-77, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят один раз каждые три недели.

80. Способ по любому из пп. 74-77, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят один раз в неделю.

81. Способ по любому из пп. 52-80, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят путем внутривенной инфузии в течение примерно 30 минут.

82. Способ по любому из пп. 52-81, отличающийся тем, что антитело против PD-1 вводят путем внутривенной инфузии в течение приблизительно 30 минут или приблизительно 60 минут.

83. Способ лечения солидной опухоли, которая имеет метастазы или подвержена риску метастазирования, включающий введение субъекту конъюгата LIV-1 антитело-лекарственное средство (LIV-1-ADC), отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозировке от 1,0 мг/кг до 4 мг/кг массы тела субъекта.

84. Способ по п. 83, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе 1,0 мг/кг массы тела субъекта.

85. Способ по п. 83, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе 1,25 мг/кг массы тела субъекта.

86. Способ по любому из пп. 83-85, отличающийся тем, что солидная опухоль выбрана из группы, состоящей из немелкоклеточной карциномы легкого (NSCLC) (плоскоклеточной и неплоскоклеточной), мелкоклеточного рака легкого, рака желудка/пищеводно-желудочного перехода (GEJ) аденокарциномы, плоскоклеточной карциномы пищевода и плоскоклеточной карциномы головы и шеи.

87. Способ лечения солидной опухоли, выбранной из группы, состоящей из немелкоклеточной карциномы легкого (NSCLC) (плоскоклеточной и неплоскоклеточной), мелкоклеточного рака легкого, аденокарциномы желудка/пищеводно-желудочного перехода (GEJ), плоскоклеточной карциномы пищевода и плоскоклеточной карциномы головы и шеи, включающий введение субъекту конъюгата LIV-1 антитело-лекарственное

средство (LIV-1-ADC).

88. Способ по п. 87, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе от 1,0 мг/кг до 4 мг/кг массы тела субъекта.

89. Способ по п. 87, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе 1,0 мг/кг массы тела субъекта.

90. Способ по п. 87, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе 1,25 мг/кг массы тела субъекта.

91. Способ по любому из пп. 83-90, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят один раз в неделю.

92. Способ по п. 83 или 87, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят в дозе от 2,0 до 2,5 мг/кг массы тела субъекта.

93. Способ по п. 92, отличающийся тем, что LIV-1-ADC вводят каждые три недели.

94. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что лечение LIV-1-ADC и антагонистом PD-1 повышает уровни CD8⁺ Т-клеток, дендритных клеток и/или макрофагов в опухоли и/или микроокружении опухоли.

95. Способ по п. 94, отличающийся тем, что лечение LIV-1-ADC и антагонистом PD-1 повышает уровень макрофагов в опухоли и/или микроокружении опухоли.

96. Способ по п. 94, отличающийся тем, что лечение LIV-1-ADC и антагонистом PD-1 повышает уровень CD8⁺ Т клеток в опухоли и/или микроокружении опухоли.

97. Способ по п. 94, отличающийся тем, что лечение LIV-1-ADC и антагонистом PD-1 повышает уровень дендритных клеток в опухоли и/или микроокружении опухоли.

98. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что лечение LIV-1-ADC и антагонистом PD-1 увеличивает экспрессию генов активации иммунитета в клетках опухоли.

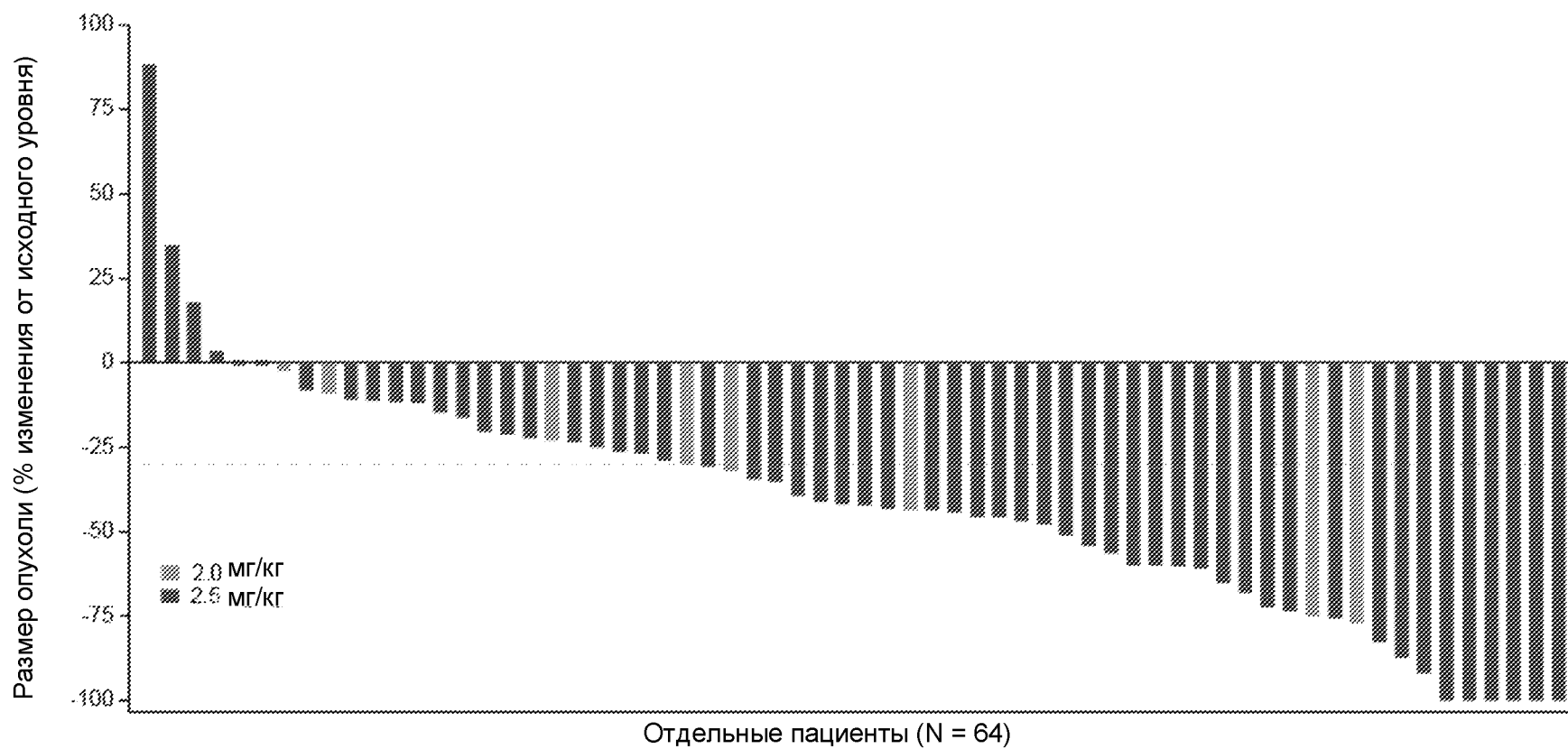
98. Способ по п. 98, отличающийся тем, что гены активации иммунитета находятся в клетках, выбранных из группы, состоящей из CD4⁺ Т-клеток, CD8⁺ Т-клеток, макрофагов и дендритных клеток.

99. Способ по п. 98 или 99, отличающийся тем, что ген активации иммунитета представляет собой ген МНС, ген цитокина, ген хемокина, ген лектина, SIGLEC1, MS4A4A, CD163, CXCL12, IL-18 и/или APOE.

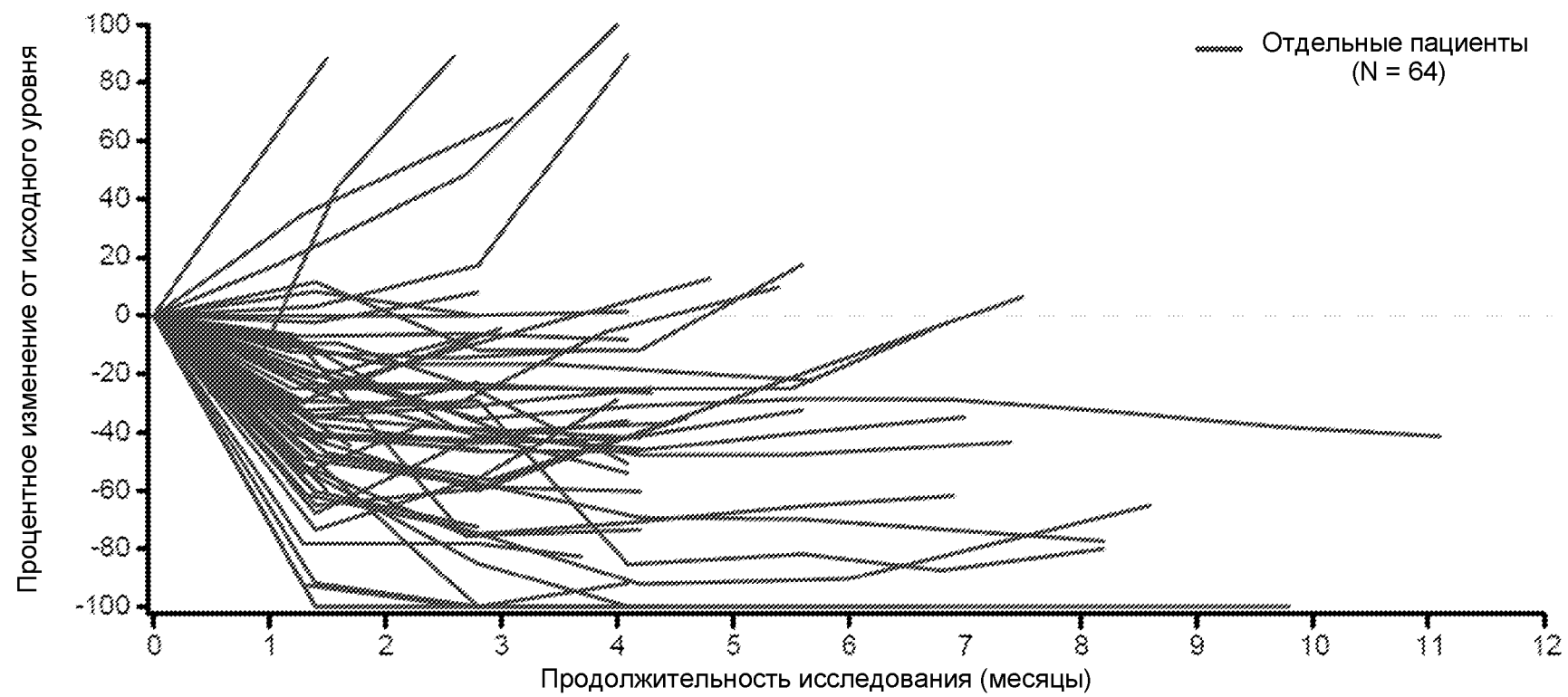
100. Способ по п. 99, отличающийся тем, что гены активации иммунитета представляют собой HLA-DMA, HLA-DOA и IL-18.

По доверенности

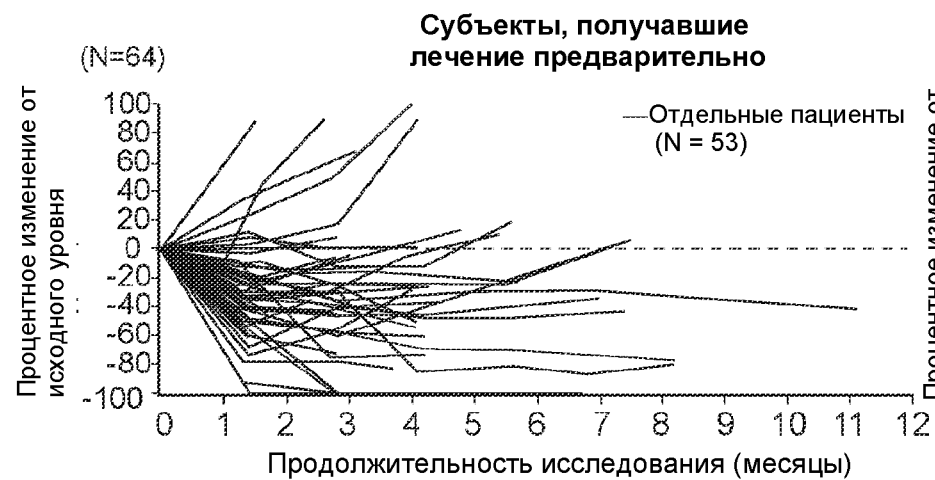
Фигура 1



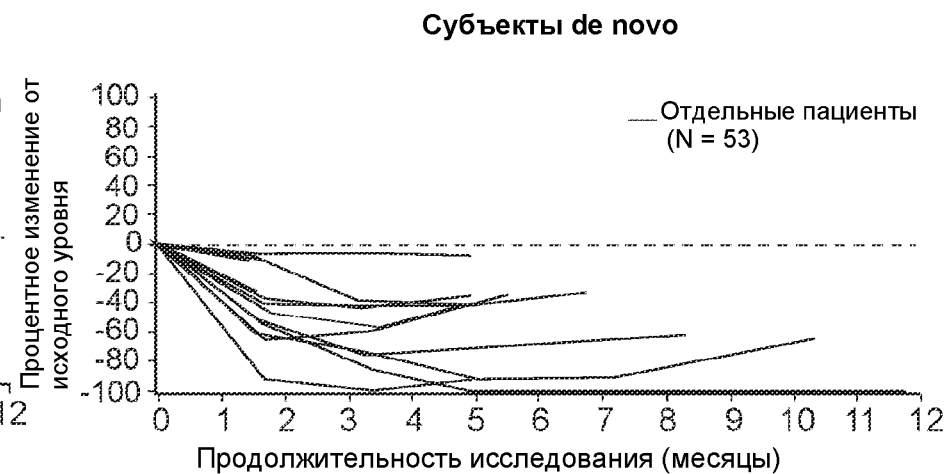
Фигура 2



	Субъекты, получавшие лечение предварительно (N=53)	Субъекты de novo (N=13)
Подтвержденный ORR, % (95% CI) ^b	26% (15.3, 40.3)	69% (38.3, 90.9)

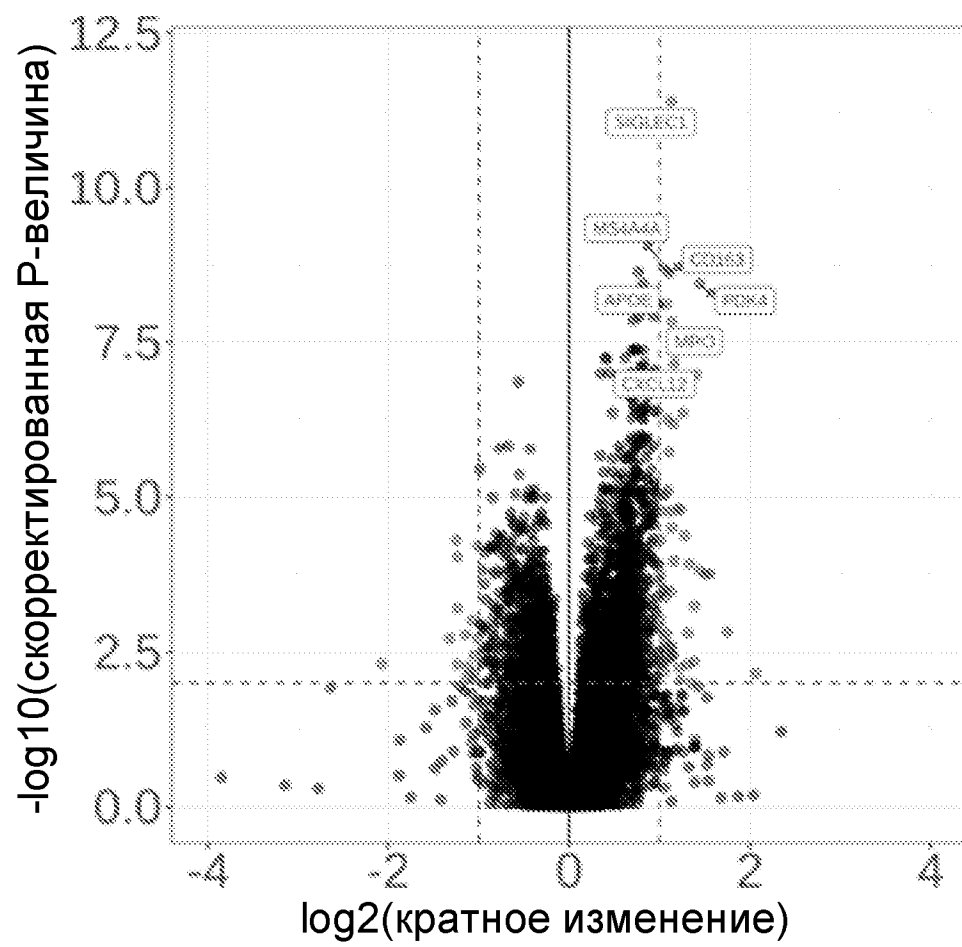


Фигура 3А

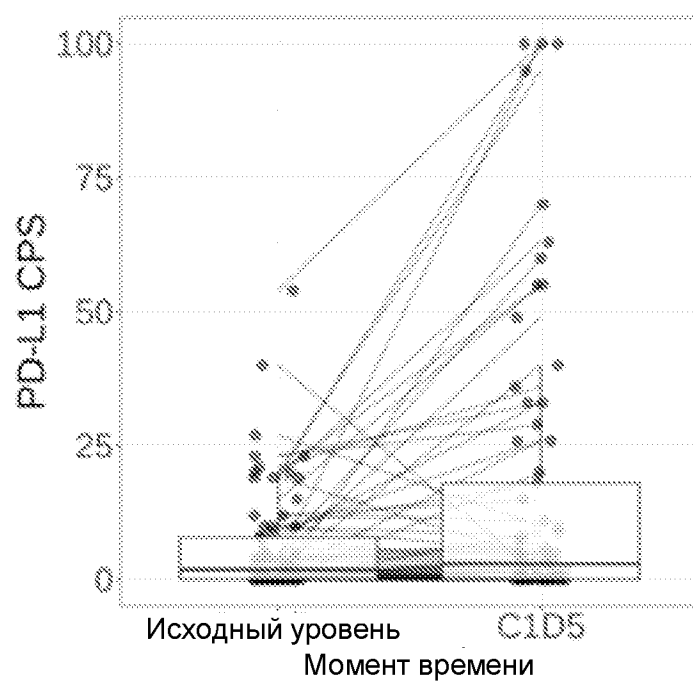
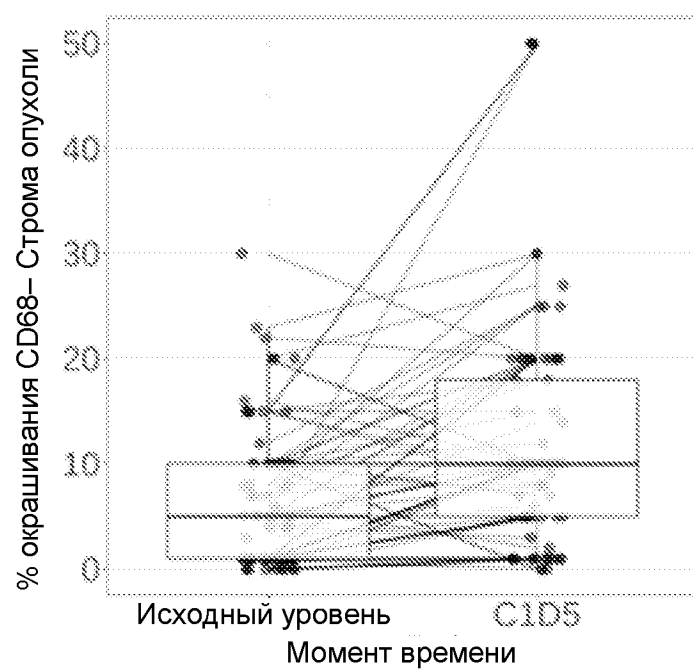


Фигура 3В

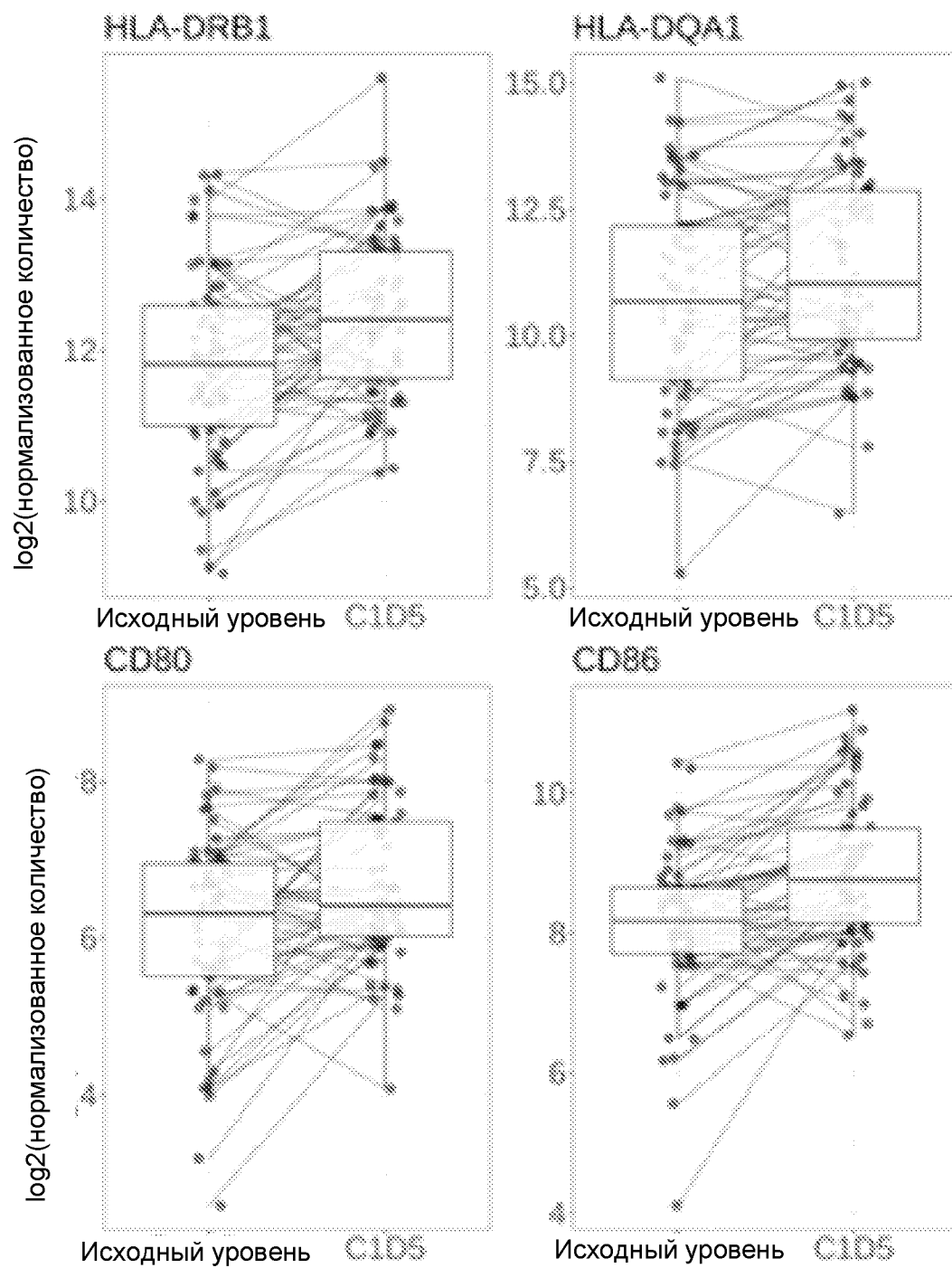
Фигура 4



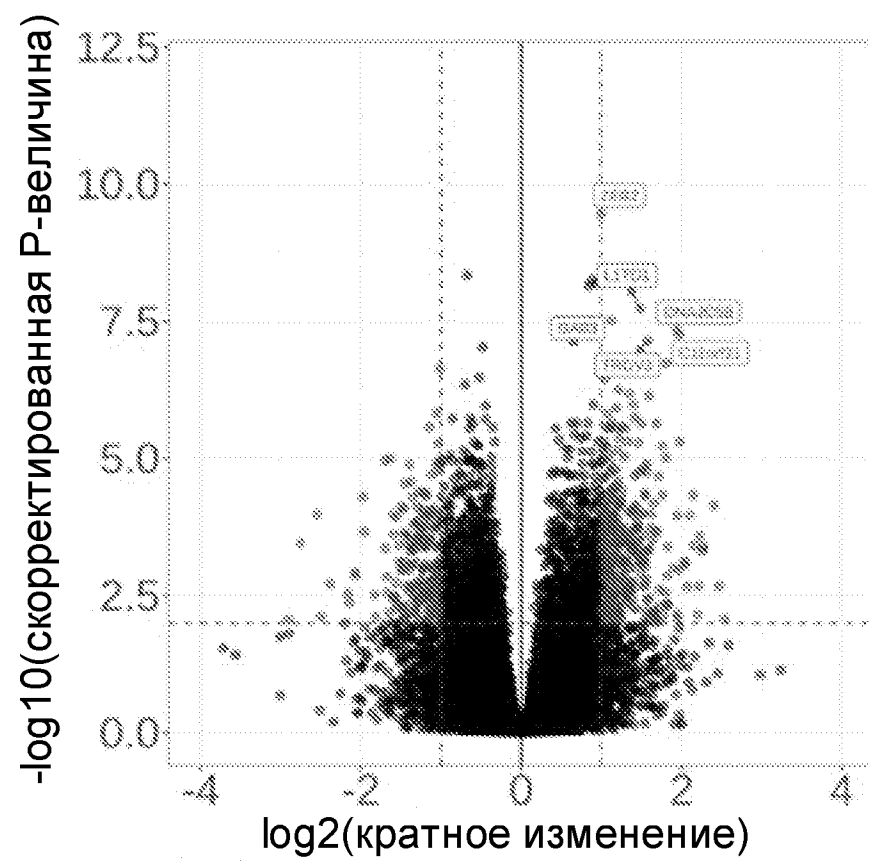
Фигура 5А-5В

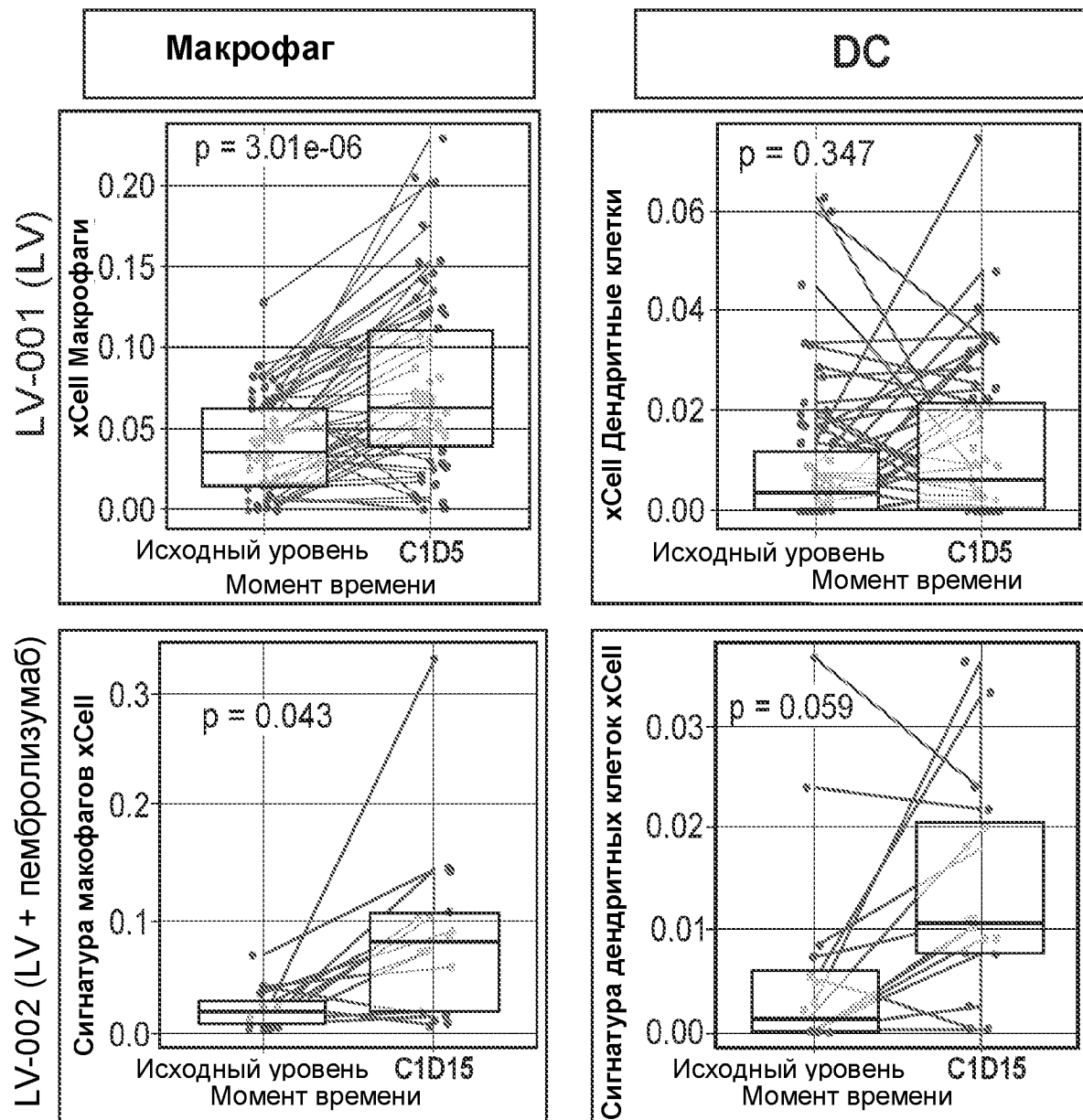


Фигура 5С

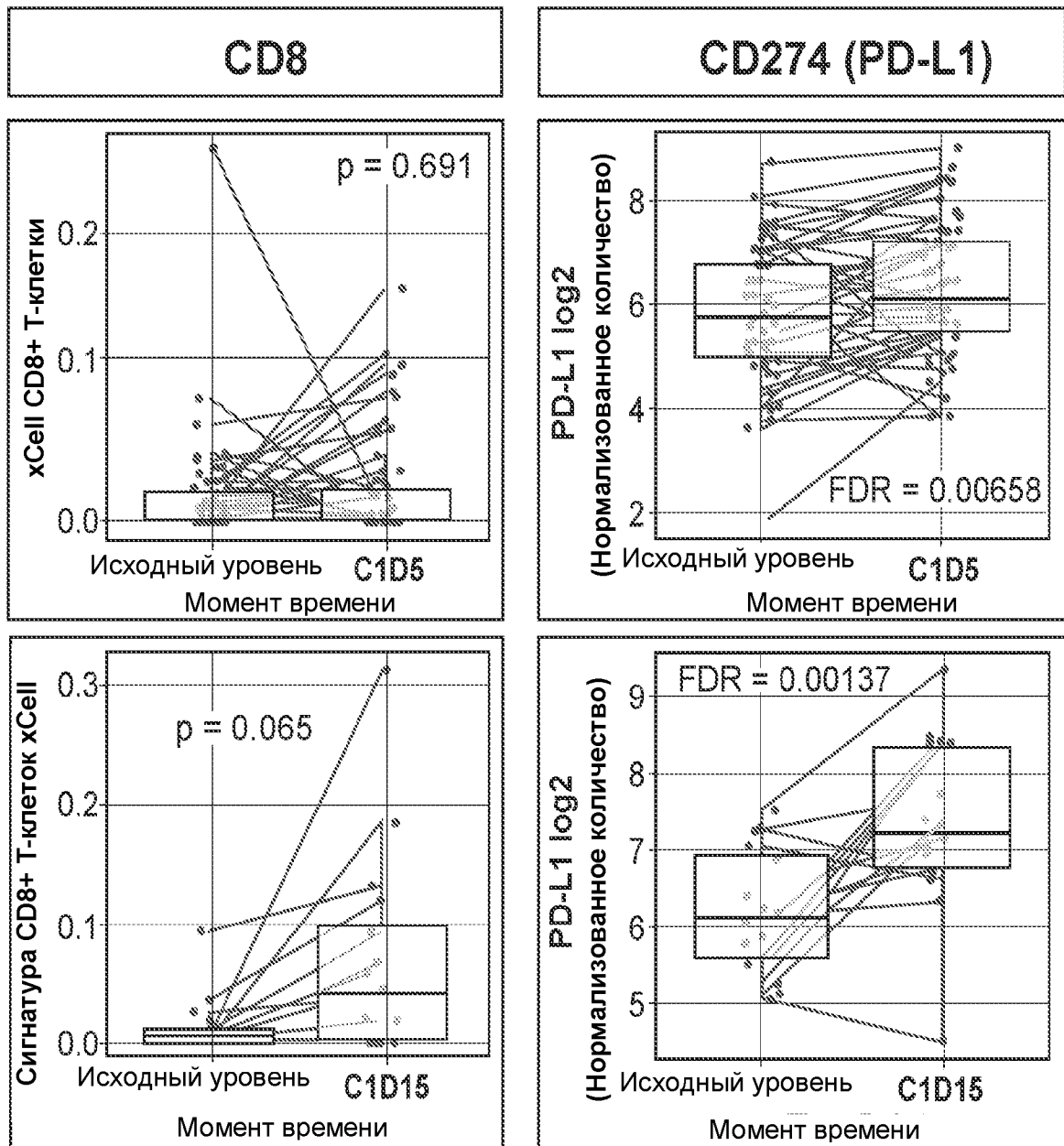


Фигура 6

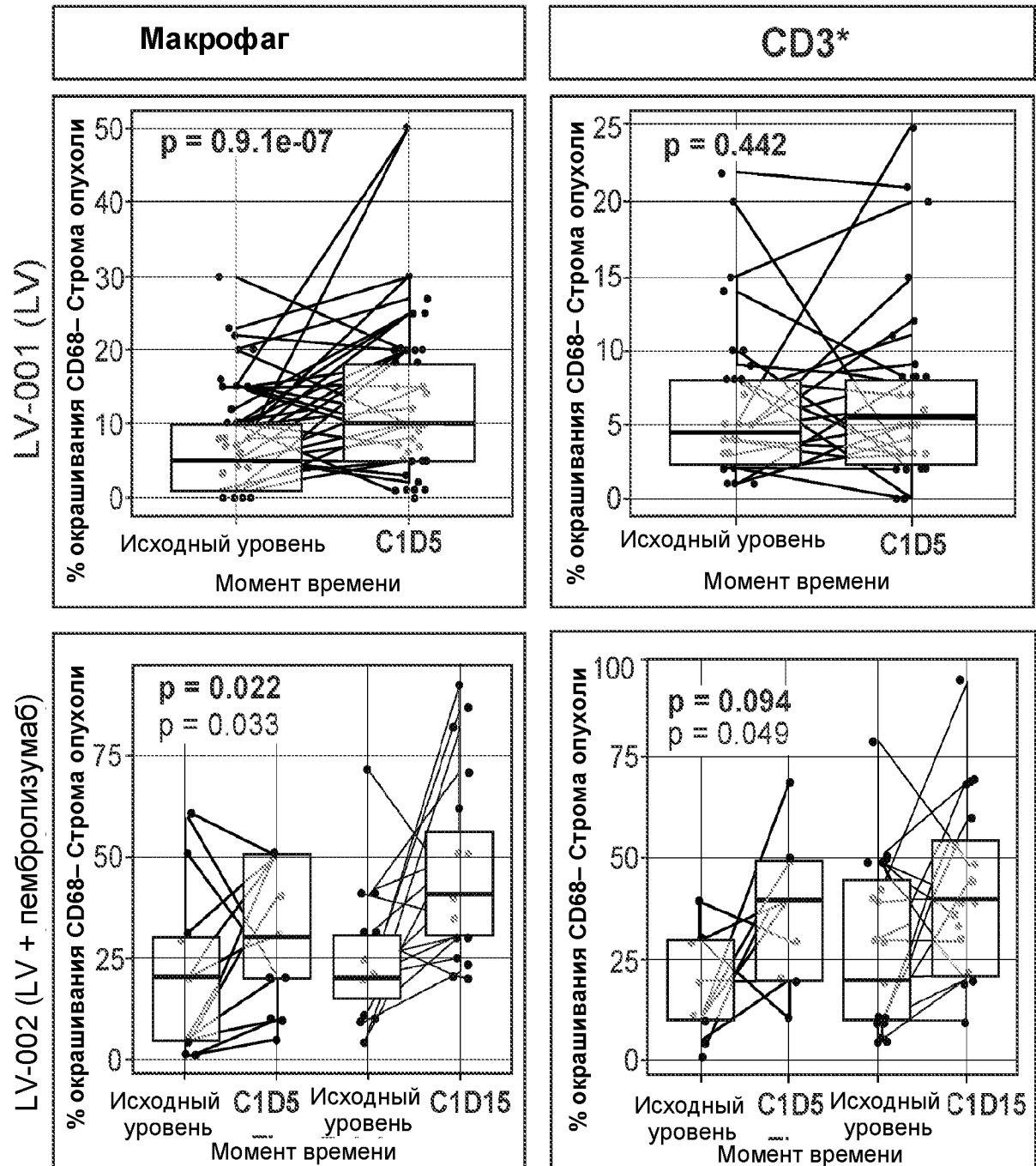




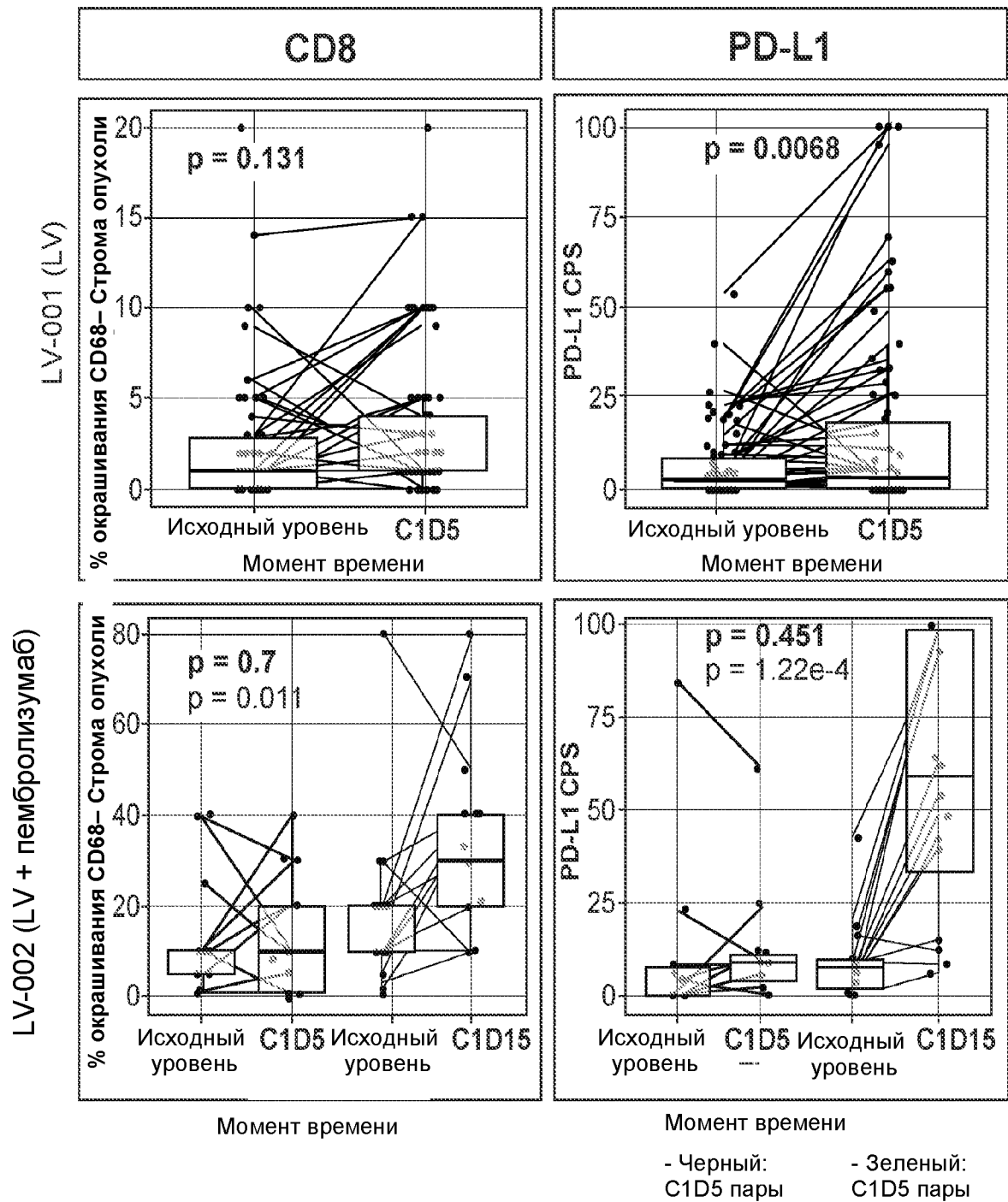
Фигура 7
(продолжение следует)



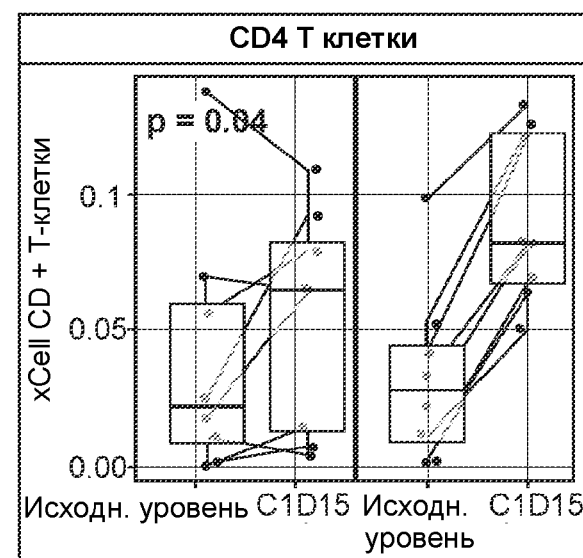
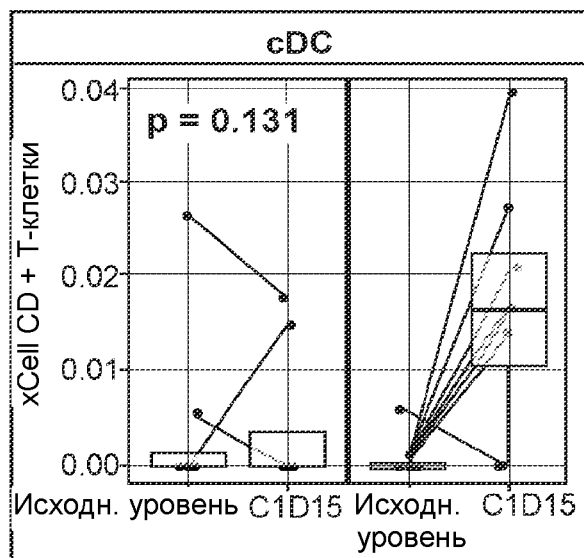
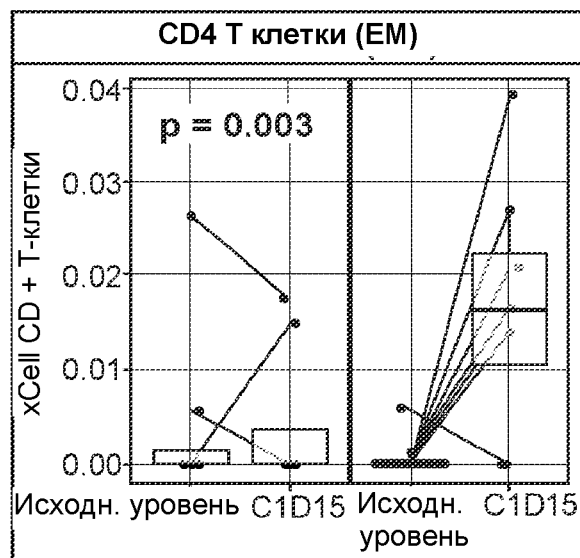
Фигура 7
(продолжение)



Фигура 8А



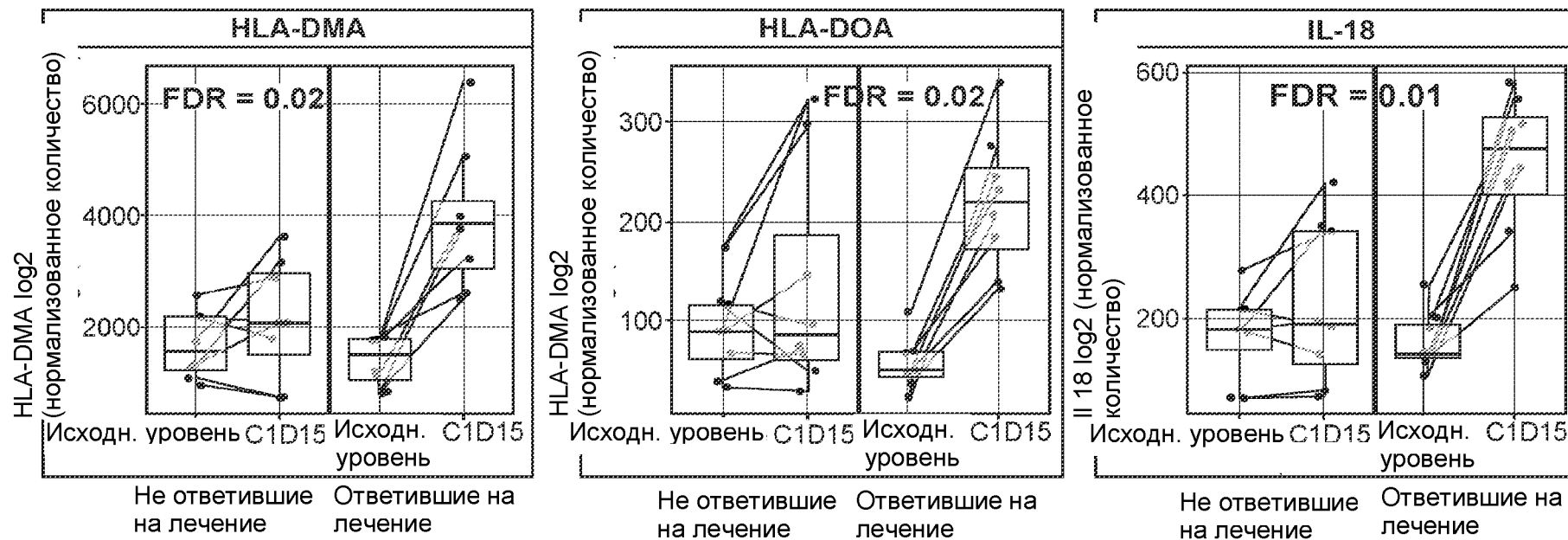
Фигура 8B



Слева: Не ответившие на лечение (NR): стабильное заболевание (SD) или прогрессирующее заболевание (PD)

Справа: Ответившие на лечение (R): частичный ответ (PR) или полный ответ (CR)

Фигура 9



Слева: Не ответившие на лечение (NR): стабильное заболевание (SD) или прогрессирующее заболевание (PD)

Справа: Ответившие на лечение (R): частичный ответ (PR) или полный ответ (CR)

Фигура 10