

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202293109 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.02.15

(22) Дата подачи заявки
2021.04.27

(51) Int. Cl. C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/00 (2006.01)

(54) ЛЕЧЕНИЕ РАКА С ПРИМЕНЕНИЕМ КОМБИНАЦИИ АНТИТЕЛА АНТИ-CD40

(31) 63/016,247

(32) 2020.04.27

(33) US

(86) PCT/US2021/029315

(87) WO 2021/222188 2021.11.04

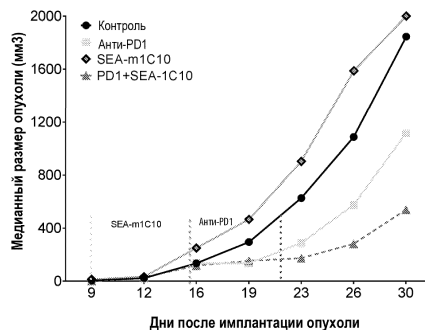
(71) Заявитель:
СИДЖЕН ИНК. (US); МСД
ИНТЕРНЭШНЛ ГМБХ (CH)

(72) Изобретатель:
Шмитт Майкл, Гардай Шира (US)

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

(57) Изобретение относится к способам лечения рака с применением комбинации антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40, и антитела анти-PD1, такого как пембролизумаб. Указанное лечение может дополнительно включать химиотерапию.

СТ26 Модель со ступенчатым введением дозы



202293109

A1

A1

202293109

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-576326RU/055

ЛЕЧЕНИЕ РАКА С ПРИМЕНЕНИЕМ КОМБИНАЦИИ АНТИТЕЛА АНТИ-CD40

ЗАЯВЛЕНИЯ ПРИОРИТЕТА

[0001] В настоящей заявке испрашивается преимущество по предварительной заявке США № 63/016 247, поданной 27 апреля 2020 г. Все содержание вышеизложенного включено в данный документ посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0002] Это изобретение относится к лечению рака с применением комбинации терапевтических агентов.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] Лечение рака может включать введение более чем одного терапевтического агента. Различные терапевтические агенты были протестированы как в качестве монотерапии, так и в составе комбинированной терапии.

[0004] Антитела анти-CD40 были протестированы в качестве потенциальных терапевтических агентов для лечения рака. CD40, представитель надсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (TNF), экспрессируется на различных типах клеток, включая нормальные и неопластические В-клетки, интердигитирующие клетки, базальные эпителиальные клетки и клетки карциномы. Взаимодействие CD40 с его лигандом/антигеном, CD40L (также обозначаемым как CD154, gp39 и TRAP), вызывает иммунный ответ. Несколько антител анти-CD40 были протестированы в клинических исследованиях, но на сегодняшний день ни одно из них не было одобрено FDA.

[0005] KEYTRUDA® (пембролизумаб), разработанный компанией Merck and Co., Inc. (Кенилворт, штат Нью-Джерси, США), представляет собой терапевтическое антитело, одобренное FDA. На сегодняшний день KEYTRUDA® одобрен для лечения различных типов опухолей и рака, включая, среди прочего, некоторые виды меланомы, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), мелкоклеточный рак легкого (SCLC), плоскоклеточный рак головы и шеи (HNSCC) и классическая лимфома Ходжкина (cHL). Этикетка препарата KEYTRUDA® доступна, *например*, в базе данных лекарственных препаратов, утвержденных FDA.

[0006] Пембролизумаб, активный ингредиент KEYTRUDA®, представляет собой антитело анти-PD-1, которое связывается со своим лигандом/антигеном, рецептором программируемой гибели клеток 1 (PD-1), и способствует уничтожению опухолевых клеток иммунной системой. PD-1 является представителем суперсемейства иммуноглобулинов и отрицательно регулирует передачу сигналов антигенного рецептора при задействовании его лигандов PD-L1 и/или PD-L2. Однако некоторые виды рака не отвечают на лечение анти-PD-1 или анти-PD-L1 (Danaher P et al. J Immunother Cancer. 2018 Jun 22;6(1):63; Algazi et al. Cancer. 2016 Nov 15; 122(21): 3344-3353).

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0007] В данном документе описана схема лечения рака с применением комбинации

антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40, и пембролизумаба. В настоящем документе также описана схема лечения рака с применением комбинации антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40, пембролизумаба и одного или большего количества химиотерапевтических агентов. Одно или большее количество химиотерапевтических агентов могут включать, например, гемцитабин и/или паклитаксел (или Nab-паклитаксел). ABRAXANE® представляет собой торговую марку паклитаксела, содержащего паклитаксел, связанный с альбумином.

[0008] SEA-CD40 представляет собой нефукозилированное или минимально фукозилированное (термины «нефукозилированное» и «минимально фукозилированное» применяются в данном описании взаимозаменяемо) антитело анти-CD40, сильно активирующее врожденную иммунную систему. SEA-CD40 проходит испытания в качестве средства для лечения рака в рамках клинического исследования NCT02376699.

[0009] Способы лечения рака с применением комбинации антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40, и пембролизумаба могут иметь синергетический эффект. Например, SEA-CD40 может стимулировать начальный врожденный иммунный ответ, в то время как блокада оси PD-1/PD-L1 может обеспечить устойчивый адаптивный иммунный ответ.

[0010] Способы лечения рака с применением комбинации антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40, и пембролизумаба могут дополнительно включать введение одного или большего количества химиотерапевтических агентов, *например*, гемцитабина и паклитаксела (или Nab-паклитаксела). ABRAXANE® представляет собой торговую марку паклитаксела, содержащего паклитаксел, связанный с альбумином.

[0011] В одном аспекте это изобретение относится к способу лечения рака поджелудочной железы, способу, включающему введение пациенту с раком поджелудочной железы: (i) химиотерапии в день 1, день 8 и день 15 каждого 28-дневного цикла, (ii) композиции, содержащей антитело анти-CD40 в день 3 каждого 28-дневного цикла, и (iii) антитела анти-PD-1 в день 8 каждого 42-дневного цикла.

[0012] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислоты 1-113 из SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислоты 1-113 из SEQ ID NO: 2, и константную область человека; при этом указанная константная область человека имеет связанную с N-гликозидом сахарную цепь на остатке N297 в соответствии с индексом EU; и при этом менее 20% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 представляет собой вариант SEA-CD40.

[0013] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой пембролизумаб, ниволумаб, h409A11, h409A16, h409A17 или AMP-514. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой цемиплимаб-rwlc, спартализумаб, AK105, тислелизумаб, достарлимаб, MEDI0680, пидилизумаб, AMP-224 или SHR-1210. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 содержит легкую цепь,

содержащую CDR из SEQ ID NO: 3-5, и тяжелую цепь, содержащую CDR из SEQ ID NO: 8-10.

[0014] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 10% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции, содержащей антитело анти-CD40, имеют остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 5% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции, содержащей антитело анти-CD40, имеют остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 3% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции, содержащей антитело анти-CD40, имеют остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 2% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции, содержащей антитело анти-CD40, имеют остаток фукозы.

[0015] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 представляет собой SEA-CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 представляет собой вариант SEA-CD40.

[0016] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения легкая цепь антитела анти-PD-1 имеет переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, а тяжелая цепь анти-PD-1 имеет переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения легкая цепь антитела анти-PD-1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, а тяжелая цепь антитела анти-PD-1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой пембролизумаб. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой вариант пембролизумаба.

[0017] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапия включает гемцитабин и/или паклитаксел. Другими словами, химиотерапия включает гемцитабин, или паклитаксел, или как гемцитабин, так и паклитаксел. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения паклитаксел представляет собой наб-паклитаксел. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения паклитаксел представляет собой паклитаксел, связанный с альбумином.

[0018] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 вводят в дозе 10 мкг/кг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 вводят в дозе 30 мкг/кг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 вводят в дозе 400 мг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 вводят внутривенно.

[0019] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак поджелудочной железы, подвергаемый лечению, представляет собой аденокарциному протоков поджелудочной железы (PDAC).

[0020] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 вводят внутривенно. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 вводят подкожно.

[0021] В другом аспекте это изобретение относится к способу лечения рака, при этом указанный способ включает: (i) введение химиотерапии пациенту, страдающему раком, в цикле каждые 4 недели, (ii) введение композиции, содержащей антитело анти-CD40 пациенту в цикле каждые 4 недели и (iii) введение антитела анти-PD-1 пациенту в цикле каждые 3 недели или 6 недель. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанную химиотерапию вводят в день 1, день 8 и день 15 каждого 4-недельного цикла, антитело анти-CD40 вводят в день 3 каждого 4-недельного цикла, а антитело анти-PD-1 вводят в день 8 каждого 3-недельного цикла или 6-недельного цикла.

[0022] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислоты 1-113 из SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислоты 1-113 из SEQ ID NO: 2, и константную область человека; при этом указанная константная область человека имеет связанную с N-гликозидом сахарную цепь на остатке N297 в соответствии с индексом EU; и при этом менее 20% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 представляет собой вариант SEA-CD40.

[0023] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой пембролизумаб, ниволумаб, h409A11, h409A16, h409A17 или AMP-514. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой цемиплимаб-rwlc, спартализумаб, AK105, тислелизумаб, достарлимаб, MEDI0680, пидилизумаб, AMP-224 или SHR-1210. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 содержит легкую цепь, содержащую CDR из SEQ ID NO: 3-5, и тяжелую цепь, содержащую CDR из SEQ ID NO: 8-10.

[0024] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 10% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции, содержащей антитело анти-CD40, имеют остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 5% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции, содержащей антитело анти-CD40, имеют остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 3% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции, содержащей антитело анти-CD40, имеют остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 2% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции, содержащей антитело анти-CD40, имеют остаток фукозы.

[0025] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 представляет собой SEA-CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 представляет собой вариант SEA-CD40.

[0026] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения легкая цепь антитела анти-PD-1 имеет переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, а тяжелая цепь анти-PD-1 имеет переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения легкая цепь антитела анти-PD-1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, а тяжелая цепь антитела анти-PD-1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой пембролизумаб. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой вариант пембролизумаба.

[0027] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 вводят в цикле каждые 3 недели, а антитело анти-PD-1 вводят в день 8 каждого 3-недельного цикла в дозе 200 мг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 вводят в цикле каждые 6 недель, а антитело анти-PD-1 вводят в день 8 каждого 6-недельного цикла в дозе 400 мг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 вводят внутривенно.

[0028] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 вводят в дозе около 3 мкг/кг, около 10 мкг/кг, около 30 мкг/кг, около 45 мкг/кг или около 60 мкг/кг массы тела пациента. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 вводят в дозе около 10 мкг/кг массы тела пациента. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 вводят в дозе около 30 мкг/кг массы тела пациента.

[0029] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой меланому; рак мочевого пузыря; рак легкого, например, мелкоклеточный рак легкого и немелкоклеточный рак легкого; рак яичников; рак почки; рак поджелудочной железы; рак молочной железы; рак шейки матки; рак головы и шеи, рак предстательной железы; глиобластому; неходжкинскую лимфому; хронический лимфолейкоз; гепатоцеллюлярную карциному; или множественную миелому. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой меланому; рак молочной железы, метастатический рак молочной железы; рак легкого, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), или рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак, подвергаемый лечению, представляет собой рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак, подвергаемый лечению, представляет собой аденокарциному протоков

поджелудочной железы (PDAC). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак, подвергаемый лечению, представляет собой метастатическую аденокарциному протоков поджелудочной железы.

[0030] В другом аспекте это изобретение относится к способу лечения рака, при этом указанный способ включает: (i) введение антитела анти-CD40 пациенту, страдающему раком, в цикле каждую неделю, каждые 2 недели, каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель или каждые 8 недель, при этом цикл включает первый цикл введения антитела анти-CD40 и (ii) введение антитела анти-PD-1 пациенту в цикле каждые 3 недели или каждые 6 недель, при этом цикл включает первый цикл введения антитела анти-PD-1. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения первое введение антитела анти-CD40 в первом цикле введения антитела анти-CD40 осуществляют за 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней или 7 дней до первого введения антитела анти-PD-1 в первом цикле введения антитела анти-PD-1.

[0031] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислоты 1-113 из SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислоты 1-113 из SEQ ID NO: 2, и константную область человека; при этом указанная константная область человека имеет связанную с N-гликозидом сахарную цепь на остатке N297 в соответствии с индексом EU; и при этом менее 20% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 представляет собой вариант SEA-CD40.

[0032] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой пембролизумаб, ниволумаб, h409A11, h409A16, h409A17 или AMP-514. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой цемиплимаб-gwlc, спартализумаб, AK105, тислелизумаб, достарлимаб, MEDI0680, пидилизумаб, AMP-224 или SHR-1210. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 содержит легкую цепь, содержащую CDR из SEQ ID NO: 3-5, и тяжелую цепь, содержащую CDR из SEQ ID NO: 8-10.

[0033] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 10% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции, содержащей антитело анти-CD40, имеют остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 5% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции, содержащей антитело анти-CD40, имеют остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 3% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции, содержащей антитело анти-CD40, имеют остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 2% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции, содержащей антитело анти-CD40, имеют остаток фукозы.

[0034] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело

анти-CD40 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 представляет собой SEA-CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 представляет собой вариант SEA-CD40.

[0035] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения легкая цепь антитела анти-PD-1 имеет переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, а тяжелая цепь анти-PD-1 имеет переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения легкая цепь антитела анти-PD-1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, а тяжелая цепь антитела анти-PD-1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой пембролизумаб. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой вариант пембролизумаба.

[0036] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 вводят в цикле каждые 2 недели, каждые 4 недели, каждые 6 недель или каждые 8 недель. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 вводят в цикле каждые 4 недели или каждые 8 недель. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 вводят в цикле каждые 4 недели.

[0037] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 вводят в цикле каждые 3 недели, в дозе 200 мг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 вводят в цикле каждые 6 недель, в дозе 400 мг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 вводят внутривенно.

[0038] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения первое введение антитела анти-CD40 в первом цикле осуществляется за 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней или 6 дней до первого введения антитела анти-PD-1 в первом цикле. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения первое введение антитела анти-CD40 в первом цикле осуществляется за 3 дня, 4 дня или 5 дней до первого введения антитела анти-PD-1 в первом цикле. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения первое введение антитела анти-CD40 в первом цикле осуществляется за 5 дней до первого введения антитела анти-PD-1 в первом цикле.

[0039] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 и антитело анти-PD-1 вводят в их первых циклах в соответствии со схемой лечения, выбранной из группы, состоящей из: антитело анти-CD40 впервые вводят в день 1, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 2; антитело анти-CD40 впервые вводят в день 1, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 3; антитело анти-CD40 впервые вводят в день 1, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 4; антитело анти-CD40 впервые вводят

[0040] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 впервые вводят в день 1, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 3. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 впервые вводят в день 1, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 5. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 впервые вводят в день 1, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 8. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 впервые вводят в день 3, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 5. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 впервые вводят в день 3, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 8. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 впервые вводят в день 5, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 8.

[0041] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 вводят в дозе около 3 мкг/кг, около 10 мкг/кг, около 30 мкг/кг, около 45 мкг/кг или около 60 мкг/кг массы тела пациента. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 вводят в дозе около 10 мкг/кг массы тела

пациента. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 вводят в дозе около 30 мкг/кг массы тела пациента.

[0042] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой меланому; рак мочевого пузыря; рак легкого, например, мелкоклеточный рак легкого и немелкоклеточный рак легкого; рак яичников; рак почки; рак поджелудочной железы; рак молочной железы; рак шейки матки; рак головы и шеи, рак предстательной железы; глиобластому; неходжкинскую лимфому; хронический лимфолейкоз; гепатоцеллюлярную карциному; или множественную миелому. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой меланому; рак молочной железы, метастатический рак молочной железы; рак легкого, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), или рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак, подвергаемый лечению, представляет собой рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак, подвергаемый лечению, представляет собой аденокарциному протоков поджелудочной железы (PDAC). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак, подвергаемый лечению, представляет собой метастатическую аденокарциному протоков поджелудочной железы.

[0043] В другом аспекте это изобретение относится к способу лечения рака, при этом указанный способ включает: (i) введение химиотерапии пациенту, имеющему рак, в цикле каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 5 недель или каждые 6 недель, (ii) введение антитела анти-CD40 пациенту, имеющему рак, в цикле каждую неделю, каждые 2 недели, каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель или каждые 8 недель и (iii) введение пациенту антитела анти-PD-1 в цикле каждые 3 недели или каждые 6 недель. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения первое введение химиотерапии в первом цикле введения химиотерапии осуществляют за 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней или 7 дней до первого введения антитела анти-CD40 в первом цикле введения антитела анти-CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения первое введение антитела анти-CD40 в первом цикле введения антитела анти-CD40 осуществляют за 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней или 7 дней до первого введения антитела анти-PD-1 в первом цикле введения антитела анти-PD-1.

[0044] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислоты 1-113 из SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислоты 1-113 из SEQ ID NO: 2, и константную область человека; при этом указанная константная область человека имеет связанную с N-гликозидом сахарную цепь на остатке N297 в соответствии с индексом EU; и при этом менее 20% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 представляет собой вариант SEA-CD40.

[0045] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой пембролизумаб, ниволумаб, h409A11, h409A16, h409A17

или AMP-514. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой цемиплимаб-gwlc, спартализумаб, АК105, тислелизумаб, достарлимаб, MEDI0680, пидилизумаб, AMP-224 или SHR-1210. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 содержит легкую цепь, содержащую CDR из SEQ ID NO: 3-5, и тяжелую цепь, содержащую CDR из SEQ ID NO: 8-10.

[0046] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 10% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции, содержащей антитело анти-CD40, имеют остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 5% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции, содержащей антитело анти-CD40, имеют остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 3% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции, содержащей антитело анти-CD40, имеют остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 2% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции, содержащей антитело анти-CD40, имеют остаток фукозы.

[0047] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 представляет собой SEA-CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40 представляет собой вариант SEA-CD40.

[0048] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения легкая цепь антитела анти-PD-1 имеет переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, а тяжелая цепь анти-PD-1 имеет переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения легкая цепь антитела анти-PD-1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, а тяжелая цепь антитела анти-PD-1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой пембролизумаб. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой вариант пембролизумаба.

[0049] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапия включает один или оба из препаратов: гемцитабин и паклитаксел. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапия включает как гемцитабин, так и паклитаксел. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапия состоит из гемцитабина и паклитаксела. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения паклитаксел представляет собой наб-паклитаксел. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения паклитаксел представляет собой паклитаксел, связанный с альбумином.

[illegible]

мелкоклеточный рак легкого и немелкоклеточный рак легкого; рак яичников; рак почки; рак поджелудочной железы; рак молочной железы; рак шейки матки; рак головы и шеи, рак предстательной железы; глиобластома; неходжкинскую лимфому; хронический лимфолейкоз; гепатоцеллюлярную карциному; или множественную миелому. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой меланому; рак молочной железы, метастатический рак молочной железы; рак легкого, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), или рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак, подвергаемый лечению, представляет собой рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак, подвергаемый лечению, представляет собой аденокарциному протоков поджелудочной железы (PDAC). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак, подвергаемый лечению, представляет собой метастатическую аденокарциному протоков поджелудочной железы.

[0057] Другие признаки и преимущества настоящего изобретения будут очевидны из следующего подробного описания и формулы изобретения.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[0058] Термин «комбинированная терапия» или «комбинация» относится к схеме лечения, включающей введение более чем одного терапевтического агента. Комбинированная терапия может включать два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, десять или некоторое количество терапевтических агентов. Каждый терапевтический агент может представлять собой молекулу того же или другого типа, включая, например, биологический агент, малую молекулу, антитело, химиотерапевтический агент и т.д. Каждый терапевтический агент можно вводить в одних и тех же или разных циклах. Некоторые или все терапевтические агенты могут быть составлены вместе. Некоторые или все терапевтические агенты можно вводить отдельно.

[0059] «Полипептид» или «полипептидная цепь» представляет собой полимер аминокислотных остатков, соединенных пептидными связями, полученный естественным путем или синтетическим путем. Полипептиды, содержащие менее чем около 10 аминокислотных остатков, обычно называют «пептидами».

[0060] «Белок» представляет собой макромолекулу, содержащую одну или большее количество полипептидных цепей. Белок может также содержать непептидные компоненты, такие как углеводные группы. Углеводы и другие непептидные заместители могут быть добавлены к белку клеткой, в которой продуцируется белок, и будут варьироваться в зависимости от типа клетки. Белки определяются в данном документе с точки зрения их структуры скелета аминокислот; заместители, такие как углеводные группы, обычно не указываются, но, тем не менее, могут присутствовать.

[0061] В контексте данного документа термины «аминоконцевой» и «карбоксиконцевой» применяются для обозначения положений внутри полипептидов. Там, где позволяет контекст, эти термины применяются в отношении конкретной последовательности или части полипептида для обозначения близости или относительного

положения. Например, определенная последовательность, расположенная на карбоксиконце эталонной последовательности внутри полипептида, расположена проксимальнее карбоксиконца эталонной последовательности, но не обязательно находится на карбоксиконце всего полипептида.

[0062] В контексте данного документа термин «антитело» применяется для обозначения белков иммуноглобулинов, вырабатываемых организмом в ответ на присутствие антигена и связывающихся с антигеном, а также их антигенсвязывающих фрагментов и сконструированных вариантов. Следовательно, термин «антитело» включает, например, интактные моноклональные антитела, содержащие полноразмерные тяжелые и легкие цепи иммуноглобулина (например, антитела, полученные с помощью гибридомной технологии) и антигенсвязывающие фрагменты антител, такие как F(ab')₂ и Fab фрагменты. Также включены генно-инженерные интактные антитела и их фрагменты, такие как химерные антитела, гуманизированные антитела, одноцепочечные Fv-фрагменты, одноцепочечные антитела, диатела, минитела, линейные антитела, поливалентные или мультиспецифические (например, биспецифические) гибридные антитела и т.п. Таким образом, термин «антитело» применяется расширительно и включает любой белок, который содержит антигенсвязывающий сайт антитела и способен специфически связываться с его антигеном.

[0063] «Антигенсвязывающий сайт антитела» представляет собой ту часть антитела, которой достаточно для связывания с его антигеном. Минимальная такая область обычно представляет собой вариабельную область или ее генно-инженерный вариант. Однодоменные сайты связывания могут быть получены из антител верблюдовых (см. Muyldermans and Lauwereys, *J. Mol. Recog.* 12:131-140, 1999; Nguyen et al., *EMBO J.* 19:921-930, 2000) или из доменов VH других видов для получения однодоменных антител («dAb»; см. Ward et al., *Nature* 341:544-546, 1989; патент США № 6 248 516, выданный Winter et al.). В определенных вариантах антигенсвязывающий сайт представляет собой полипептидную область, имеющую только 2 определяющие комплементарность области (CDR) природной или неприродной (например, мутагенизированной) вариабельной области тяжелой цепи или вариабельной области легкой цепи, или их комбинацию (см., например, Pessi et al., *Nature* 362:367-369, 1993; Qiu et al., *Nature Biotechnol.* 25:921-929, 2007). Чаще всего антигенсвязывающий сайт антитела содержит как вариабельный домен тяжелой цепи (VH), так и вариабельный домен легкой цепи (VL), которые связываются с общим эпитопом. В контексте настоящего изобретения антитело может включать один или большее количество компонентов в дополнение к сайту связывания антигена, например, второй антигенсвязывающий сайт антитела (который может связываться с одним и тем же или другим эпитопом или с одним и тем же или другим антигеном), пептидный линкер, константную область иммуноглобулина, шарнир иммуноглобулина, амфипатическую спираль (см. Pack and Pluckthun, *Biochem.* 31:1579-1584, 1992), непептидный линкер, олигонуклеотид (см. Chaudri et al., *FEBS Letters* 450:23-26, 1999), цитостатический или цитотоксический агент и т.п., и может быть мономерным или мультимерным белком.

Примеры молекул, содержащих антигенсвязывающий сайт антитела, известны в данной области техники и включают, например, Fv, одноцепочечный Fv (scFv), Fab, Fab', F(ab')₂, F(ab)_c, диатела, dAb, минитела, нанотела, слияния Fab-scFv, биспецифическую молекулу (scFv)₄-IgG и биспецифическую молекулу (scFv)₂-Fab. (См., например, Hu et al., *Cancer Res.* 56:3055-3061, 1996; Atwell et al., *Molecular Immunology* 33:1301-1312, 1996; Carter and Merchant, *Curr. Opin. Biotechnol.* 8:449-454, 1997; Zuo et al., *Protein Engineering* 13:361-367, 2000; и Lu et al., *J. Immunol. Methods* 267:213-226, 2002.)

[0064] Термины «рак», «злокачественный» или «злокачественный» относятся или описывают физиологическое состояние у млекопитающих, которое обычно характеризуется нерегулируемым ростом клеток. Рак может быть солидной опухолью или раком крови. Рак также может представлять собой меланому, рак молочной железы, включая метастатический рак молочной железы, рак легкого, включая немелкоклеточный рак легкого, рак поджелудочной железы, лимфому, колоректальный рак или рак почки. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой меланому; рак молочной железы, включая метастатический рак молочной железы; рак легкого, включая немелкоклеточный рак легкого; или рак поджелудочной железы. Рак поджелудочной железы может быть аденокарциномой протоков поджелудочной железы (PDAC). PDAC также может быть метастатическим.

[0065] В контексте данного документа термин «иммуноглобулин» относится к белку, состоящему из одного или большего количества полипептидов, по существу кодируемых геном(ами) иммуноглобулина. Одна форма иммуноглобулина составляет основную структурную единицу нативных (т.е. природных) антител у позвоночных. Эта форма представляет собой тетрамер и состоит из двух идентичных пар цепей иммуноглобулина, при этом каждая пара имеет одну легкую цепь и одну тяжелую цепь. В каждой паре переменные области легкой и тяжелой цепей (VL и VH) вместе в первую очередь отвечают за связывание с антигеном, а константные области в первую очередь отвечают за эффекторные функции антитела. У высших позвоночных идентифицировано пять классов белков иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgM, IgD и IgE). IgG включает основной класс; обычно он существует как второй по распространенности белок в плазме. У человека IgG состоит из четырех подклассов, обозначаемых как IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Константные области тяжелой цепи класса IgG обозначаются греческим символом γ . Например, иммуноглобулины подкласса IgG1 содержат константную область тяжелой цепи $\gamma 1$. Каждая тяжелая цепь иммуноглобулина имеет константную область, состоящую из белковых доменов константной области (CH1, шарнир, CH2 и CH3; IgG3 также содержит домен CH4), которые по существу инвариантны для данного подкласса у вида. Последовательности ДНК, кодирующие цепи иммуноглобулина человека и не человека, известны в данной области техники. (См., например, Ellison et al., *DNA* 1:11-18, 1981; Ellison et al., *Nucleic Acids Res.* 10:4071-4079, 1982; Kenten et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79:6661-6665, 1982; Seno et al., *Nuc. Acids Res.* 11:719-726, 1983; Riechmann et al., *Nature* 332:323-327, 1988; Amster et al., *Nuc. Acids Res.* 8:2055-2065, 1980; Rusconi and Kohler, *Nature* 314:330-

334, 1985; Boss et al., *Nuc. Acids Res.* 12:3791-3806, 1984; Bothwell et al., *Nature* 298:380-382, 1982; van der Loo et al., *Immunogenetics* 42:333-341, 1995; Karlin et al., *J. Mol. Evol.* 22:195-208, 1985; Kindsvogel et al., *DNA* 1:335-343, 1982; Breiner et al., *Gene* 18:165-174, 1982; Kondo et al., *Eur. J. Immunol.* 23:245-249, 1993; и номер доступа GenBank J00228.) Для обзора структуры и функции иммуноглобулина см. публикации Putnam, *The Plasma Proteins*, Vol V, Academic Press, Inc., 49-140, 1987; и Padlan, *Mol. Immunol.* 31:169-217, 1994. В контексте данного документа термин «иммуноглобулин» применяется в его обычном значении, обозначая интактное антитело, его составные цепи или фрагменты цепей, в зависимости от контекста.

[0066] Полноразмерные «легкие цепи» иммуноглобулина (около 25 кДа или 214 аминокислот) кодируются геном варибельной области на аминоконце (кодирует около 110 аминокислот) и геном константной области каппа или лямбда на карбоксиконце. Полноразмерные «тяжелые цепи» иммуноглобулина (около 50 кД или 446 аминокислот) кодируются геном варибельной области (кодирующим около 116 аминокислот) и геном константной области гамма, мю, альфа, дельта или эpsilon (кодирующим около 330 аминокислот), последний определяет изотип антитела как IgG, IgM, IgA, IgD или IgE соответственно. В легкой и тяжелой цепях, варибельная и константная области соединены областью «J», состоящей из около 12 или более аминокислот, при этом тяжелая цепь также включает область «D», состоящая еще из около 10 аминокислот. (См. в целом *Fundamental Immunology* (Paul, ed., Raven Press, N.Y., 2nd ed. 1989), Ch. 7).

[0067] Варибельная область легкой или тяжелой цепи иммуноглобулина (также называемая в данном документе «варибельной областью легкой цепи» («VL область») или «варибельной областью тяжелой цепи» («VH область») соответственно) состоит из «каркасной» области, прерванной тремя гиперварибельными областями, также называемыми «областями, определяющими комплементарность» или «CDR». Каркасные области служат для выравнивания CDR для специфического связывания с эпитопом антигена. Таким образом, термин «гиперварибельная область» или «CDR» относится к аминокислотным остаткам антитела, которые в первую очередь ответственны за связывание антигена. От аминоконца до карбоксиконца домены как VL, так и VH содержат следующие каркасные области (FR) и области CDR: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Назначение аминокислот каждому домену соответствует определениям по Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1987 и 1991), или Chothia & Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917, 1987; Chothia et al., *Nature* 342:878-883, 1989. Kabat также предлагает широко применяемое соглашение о нумерации (нумерация по Kabat), в котором соответствующим остаткам между разными тяжелыми цепями или между разными легкими цепями присваиваются одинаковые номера. CDR 1, 2 и 3 домена VL также упоминаются в данном документе соответственно как CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3; CDR 1, 2 и 3 домена VH также обозначаются в данном документе соответственно как CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3.

[0068] Если контекст не требует иного, термин «моноклональное антитело», при

применении в данном документе, не ограничивается антителами, полученными с помощью гибридомной технологии. Термин «моноклональное антитело» относится к антителу, полученному из одного клона, включая любой эукариотический, прокариотический или фаговый клон, а не к способу его получения.

[0069] Термин «химерное антитело» относится к антителу, имеющему переменные области, происходящие от первого вида, и константные области, происходящие от второго вида. Химерные иммуноглобулины или антитела могут быть сконструированы, например, с помощью генной инженерии из сегментов гена иммуноглобулина, принадлежащих разным видам. Термин «гуманизированное антитело», как определено ниже, не предназначен для охвата химерных антител. Хотя гуманизированные антитела являются химерными по своей конструкции (т. е. содержат области из более чем одного вида белка), они включают дополнительные признаки (т. е. переменные области, содержащие донорные CDR остатки и акцепторные каркасные остатки), не обнаруженные в химерных иммуноглобулинах или антителах, как определено в данном документе.

[0070] Термин «гуманизированный домен VH» или «гуманизированный домен VL» относится к домену VH или VL иммуноглобулина, содержащему некоторые или все CDR, полностью или по существу происходящих от иммуноглобулина донора, отличного от человека (например, мышинного или крысиного), и каркасных последовательностей переменной области, полностью или по существу происходящих от последовательностей иммуноглобулина человека. Нечеловеческий иммуноглобулин, обеспечивающий CDR, называется «донором», а человеческий иммуноглобулин, обеспечивающий каркас, называется «акцептором». В некоторых случаях гуманизированные антитела могут сохранять нечеловеческие остатки в переменных каркасных областях человека для улучшения надлежащих характеристик связывания (например, могут потребоваться мутации в каркасах для сохранения аффинности связывания, когда антитело гуманизировано).

[0071] «Гуманизированное антитело» представляет собой антитело, содержащее один или оба из следующих доменов: гуманизированный домен VH и гуманизированный домен VL. Константная(ые) область(и) иммуноглобулина необязательно должна присутствовать, но если такие области присутствуют, то они полностью или по существу происходят из константных областей иммуноглобулина человека.

[0072] Специфическое связывание антитела с его целевым антигеном означает аффинность по меньшей мере 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 или 10^{10} M⁻¹. Специфическое связывание заметно выше по величине и отличается от неспецифического связывания, происходящего по меньшей мере с одной неродственной мишенью. Специфическое связывание может быть результатом образования связей между определенными функциональными группами или определенного пространственного соответствия (например, тип замка и ключа), тогда как неспецифическое связывание обычно является результатом сил Ван-дер-Ваальса. Однако специфическое связывание не обязательно означает, что моноклональное антитело связывает одну и только одну мишень.

[0073] Что касается белков, описанных в данном документе, ссылка на аминокислотные остатки, соответствующие аминокислотным остаткам, указанным в SEQ ID NO, включает посттрансляционные модификации таких остатков.

[0074] В контексте данного документа термин «разбавитель» относится к раствору, подходящему для изменения или достижения типовой или подходящей концентрации или концентраций, как описано в данном документе.

[0075] Термин «контейнер» относится к чему-то, во что можно поместить или в чем можно содержать предмет или жидкость, например, для хранения (например, держатель, емкость, сосуд и т.п.).

[0076] Термин «путь введения» включает известные в данной области техники пути введения терапевтического белка, такие как, например, парентеральное, внутривенное, внутримышечное или подкожное введение. При лечении рака, для антитела может быть желательным введение в большой круг кровообращения путем внутривенного или подкожного введения. Для лечения рака, характеризующегося солидной опухолью, если желательно, введение также может быть локализовано непосредственно в опухоль.

[0077] Термин «лечение» относится к введению терапевтического агента пациенту, у которого есть заболевание, с целью излечения, исцеления, облегчения, отсрочки, ослабления, изменения, модификации, улучшения, оптимизации или влияния на болезнь.

[0078] Термин «паклитаксел» относится к химиотерапевтическому агенту паклитакселу в исходной форме или к различным составам, таким как «связанный с альбумином паклитаксел» и «ABRAXANE®», который представляет собой торговую марку паклитаксела, содержащего связанный с альбумином паклитаксел.

[0079] Термин «пациент» включает людей и других млекопитающих, которые получают либо профилактическое, либо терапевтическое лечение.

[0080] Термин «эффективное количество», «эффективная доза» или «эффективное дозирование» относится к количеству, достаточному для достижения или по меньшей мере частичного достижения желаемого эффекта, например, достаточному для ингибирования возникновения или ослабления одного или большего количества симптомов заболевания или нарушения. Эффективное количество фармацевтической композиции вводят по «эффективной схеме». Термин «эффективная схема» относится к комбинации количества вводимой композиции и частоты введения, адекватной для выполнения профилактического или терапевтического лечения заболевания или нарушения.

[0081] В контексте данного документа термин «около» обозначает приблизительный диапазон плюс или минус 10% от указанного значения. Например, фраза «около 20 мкг/кг» охватывает диапазон 18-22 мкг/кг. В контексте данного документа термин «около» также включает точное количество. Следовательно, «около 20 мкг/кг» означает «около 20 мкг/кг», а также «20 мкг/кг».

[0082] В контексте данного документа термин «вариант пембролизумаба» означает моноклональное антитело, содержащее последовательности тяжелой и легкой цепей, по существу идентичные последовательностям пембролизумаба, за исключением наличия

трех, двух или одной консервативной аминокислотной замены в положениях, расположенных за пределами CDR легкой цепи и шести, пяти, четырех, трех, двух или одной замены консервативных аминокислот, которые расположены за пределами CDR тяжелой цепи, например, варианты положения расположены в FR (каркасных) областях переменных областей или расположены в константных областях, и необязательно имеют 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 такой же, как пембролизумаб в отношении следующих свойств: аффинность связывания с PD-1 и способность блокировать связывание каждого из PD-L1 и PD-L2 с PD-1.

[0083] «Антагонист PD-1» означает любое химическое соединение или биологическую молекулу, которая блокирует связывание PD-L1 (например, экспрессированного на раковой клетке) с PD-1 (например, экспрессированного на иммунной клетке (Т-клетке, В-клетке или NKT-клетке)) и предпочтительно также блокирует связывание PD-L2 (например, экспрессированного на раковой клетке) с PD-1 (например, PD-1, экспрессируемого 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; а также PDCD1L2, PDL2, B7-DC, Btdc и CD273 для PD-L2. В любом из способов лечения, лекарственных средств и применений по настоящему изобретению, с помощью которых лечится индивидуум, 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 №: NP_054862 и NP_079515, соответственно.

[0084] В контексте данного документа термин «вариант SEA-CD40» означает моноклональное антитело, содержащее последовательности тяжелой и легкой цепей, по существу идентичные последовательностям SEA-CD40, за исключением наличия трех, двух или одной консервативной аминокислотной замены в положениях, расположенных за пределами CDR легкой цепи и шести, пяти, четырех, трех, двух или одной замены консервативных аминокислот, которые расположены за пределами CDR тяжелой цепи, например, варианты положения расположены в FR (каркасных) областях переменных областей или расположены в константных областях, и необязательно имеют делецию С-концевого остатка лизина тяжелой цепи. Другими словами, SEA-CD40 и вариант SEA-CD40 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 SEA-CD40 по существу такой же, как SEA-CD40 в отношении следующих свойств:

аффинность связывания с CD40 и характеристики отсутствия фукозилирования.

[0085] «Консервативные аминокислотные замены» относится к заменам аминокислот в белке другими аминокислотами, имеющими сходные характеристики (например, заряд, размер боковой цепи, гидрофобность/гидрофильность, конформация и жесткость основной цепи и т. д.), так что изменения часто могут быть осуществлены без изменения биологической активности или других желаемых свойств белка, таких как аффинность к антигену и/или специфичность. Специалистам в данной области техники известно, что, как правило, замены отдельных аминокислот в заменимых областях полипептида существенно не изменяют биологическую активность (см., например, публикацию Watson *et al.* (1987) *Molecular Biology of the Gene*, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4th Ed.)). Кроме того, замена структурно или функционально сходных аминокислот с меньшей вероятностью нарушит биологическую активность. Типовые консервативные замены приведены в Таблице 1.

[0086] Таблица 1. Типовые консервативные аминокислотные замены

Исходный остаток	Консервативная замена
Ala (A)	Gly; Ser
Arg (R)	Lys; His
Asn (N)	Gln; His
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln
Ile (I)	Leu; Val
Leu (L)	Ile; Val
Lys (K)	Arg; His
Met (M)	Leu; Ile; Tyr
Phe (F)	Tyr; Met; Leu
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe
Val (V)	Ile; Leu

[0087] Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в

данном документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области техники, к которой относится настоящее изобретение. В данном документе описаны способы и материалы для применения в настоящем изобретении; также могут быть применены другие подходящие способы и материалы, известные в данной области техники. Материалы, способы и примеры являются только иллюстративными и не предназначены для ограничения. Все публикации, заявки на патенты, патенты, последовательности, записи в базе данных и другие источники, упомянутые в данном документе, включены посредством ссылки в полном объеме. В случае конфликта, данное описание, включая определения, будет иметь преимущество.

ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0088] **Фиг. 1А** демонстрирует средний объем опухоли у мышей с моделью рака толстой кишки CT26, которые не получали лечения (G1; контроль); получали суррогатное антитело анти-mPD-1 (G2; «анти-PD1»); получали SEA-m1C10 (G3; «SEA-m1C10»); или получали SEA-m1C10 и суррогатное антитело анти-mPD1 путем одновременного введения (G4; «SEA-m1C10+анти-PD1»).

[0089] **Фиг. 1В** демонстрирует средний объем опухоли у мышей с моделью рака толстой кишки CT26, которые не получали лечения (G1; контроль); получали суррогатное антитело анти-mPD-1 (G2; «анти-PD1»); получали SEA-m1C10 (G3; «SEA-m1C10»); или получали SEA-m1C10 и суррогатное антитело анти-mPD1 путем поэтапного введения (G4; «SEA-m1C10+анти-PD1»). Период времени введения доз SEA-m1C10 и введения доз анти-PD1 отмечен вертикальными линиями на оси X.

[0090] **Фиг. 2А** демонстрирует кривые выживания мышей с моделью диссеминированной лимфомы A20, которые не получали лечения (G1; контроль); получали суррогатное антитело анти-mPD-1 (G2; «анти-PD1»); получали SEA-m1C10 (G3; «SEA-m1C10»); или получали SEA-m1C10 и суррогатное антитело анти-mPD1 путем одновременного введения (G4; «SEA-m1C10+анти-PD1»).

[0091] **Фиг. 2В** демонстрирует средний объем опухоли у мышей с моделью диссеминированной лимфомы A20, которые не получали лечения (G1; контроль); получали суррогатное антитело анти-mPD-1 (G2; «анти-PD1»); получали SEA-m1C10 (G3; «SEA-m1C10»); или получали SEA-m1C10 и суррогатное антитело анти-mPD1 путем поэтапного введения (G4; «SEA-m1C10+анти-PD1»). Период времени введения доз SEA-m1C10 и введения доз анти-PD1 отмечен вертикальными линиями на оси X.

[0092] **Фиг. 3А** демонстрирует средний объем опухоли у мышей в модели почечно-клеточной карциномы RENCA, которые не получали лечения (G1; контроль); получали суррогатное антитело анти-mPD-1 (G2; «анти-PD1»); получали SEA-m1C10 (G3; «SEA-m1C10»); или получали SEA-m1C10 и суррогатное антитело анти-mPD1 путем одновременного введения (G4; «SEA-m1C10+анти-PD1»).

[0093] **Фиг. 3В** демонстрирует средний объем опухоли у мышей в модели почечно-клеточной карциномы RENCA, которые не получали лечения (G1; контроль); получали суррогатное антитело анти-mPD-1 (G2; «анти-PD1»); получали SEA-m1C10 (G3; «SEA-

m1C10»); или получали SEA-m1C10 и суррогатное антитело анти-mPD1 путем поэтапного введения (G4; «SEA-m1C10+анти-PD1»). Период времени введения доз SEA-m1C10 и введения доз анти-PD1 отмечен вертикальными линиями на оси X.

[0094] На **Фиг. 4** перечислены последовательности, обсуждаемые в описании. Вариабельные области выделены жирным шрифтом и подчеркнуты.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[0095] Настоящее изобретение относится к способам лечения рака с применением комбинации антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40, и антитела анти-PD-1, такого как пембролизумаб. В одном аспекте настоящего изобретения также предлагаются способы лечения рака с применением комбинации антитела анти-CD40, антитела анти-PD-1 и химиотерапии.

CD40

[0096] CD40 является представителем надсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (TNF). Это одноцепочечный трансмембранный белок типа I с кажущейся молекулярной массой 50 кДа. Его зрелое полипептидное ядро состоит из 237 аминокислот, из которых 173 аминокислоты составляют внеклеточный домен (ECD), организованный в 4 повтора, богатых цистеином, которые характерны для представителей семейства рецепторов TNF. Два потенциальных сайта N-гликозилирования присутствуют в проксимальной области мембраны ECD, в то время как потенциальные сайты O-гликозилирования отсутствуют. Трансмембранный домен из 22 аминокислот соединяет ECD с цитоплазматическим хвостом CD40 из 42 аминокислот. Мотивы последовательности, участвующие в CD40-опосредованной передаче сигнала, были идентифицированы в цитоплазматическом хвосте CD40. Эти мотивы взаимодействуют с цитоплазматическими факторами, называемыми TNF-R-ассоциированными факторами (TRAF), для запуска множества последующих событий, включая активацию MAP-киназ и NFκB, которые, в свою очередь, модулируют транскрипционную активность различных факторов, связанных с воспалением, выживанием и ростом. См., например, публикации van Kooten and Banchereau, *J. Leukoc. Biol.* 67:2-17 (2000); Elgueta et al., *Immunol. Rev.* 229:152-172 (2009).

[0097] В гемопозитической системе, CD40 можно найти на В-клетках на нескольких стадиях дифференцировки, моноцитах, макрофагах, тромбоцитах, фолликулярных дендритных клетках, дендритных клетках (DC), эозинофилах и активированных Т-клетках. В нормальных некроветворных тканях CD40 обнаруживают на клетках почечного эпителия, кератиноцитах, фибробластах синовиальной оболочки и дермального происхождения, а также активированном эндотелии. Растворимая версия CD40 высвобождается из клеток, экспрессирующих CD40, возможно, посредством дифференциального сплайсинга первичного транскрипта или ограниченного протеолиза ферментом, превращающим металлопротеиназу TNFα. Потеря CD40 потенциально может модифицировать иммунный ответ, вмешиваясь во взаимодействие CD40/CD40L. См., например, публикации van Kooten and Banchereau, *J. Leukoc. Biol.* 67:2-17 (2000); Elgueta et

al., *Immunol. Rev.* 229:152-172 (2009).

[0098] Эндогенный лиганд для CD40 (CD40L) представляет собой мембранный гликопротеин типа II с молекулярной массой 39 кДа, также известный как CD154. CD40L является представителем суперсемейства TNF и экспрессируется в виде тримера на клеточной поверхности. CD40L временно экспрессируется на активированных CD4⁺, CD8⁺ и $\gamma\delta$ Т-клетках. CD40L также обнаруживается в различных количествах на очищенных моноцитах, активированных В-клетках, эпителиальных и эндотелиальных клетках сосудов, гладкомышечных клетках и DC, но функциональная значимость экспрессии CD40L на этих типах клеток четко не определена (van Kooten 2000; Elgueta 2009). Однако экспрессия CD40L на активированных тромбоцитах вовлечена в патогенез тромботических заболеваний. См., например, публикацию Ferroni et al., *Curr. Med. Chem.* 14:2170-2180 (2007).

[0099] Наиболее хорошо охарактеризованной функцией взаимодействия CD40/CD40L является его роль в контактно-зависимом реципрокном взаимодействии между антигенпрезентирующими клетками и Т-клетками. См., например, публикации van Kooten and Banchereau, *J. Leukoc. Biol.* 67:2-17 (2000); Elgueta et al., *Immunol. Rev.* 229:152-172 (2009). Связывание CD40L на активированных Т-клетках с CD40 на активированных антигеном В-клетках не только вызывает быстрое размножение В-клеток, но также обеспечивает важный сигнал для В-клеток, чтобы дифференцироваться либо в В-клетки памяти, либо в плазматические клетки. Передача сигналов CD40 отвечает за формирование зародышевых центров, в которых В-клетки подвергаются созреванию аффинности и переключению изотипа, чтобы приобрести способность продуцировать высокоаффинные антитела изотипов IgG, IgA и IgE. См., например, публикацию Kehry, J. *Immunol.* 156:2345-2348 (1996). Таким образом, индивидуумы с мутациями в локусе CD40L, препятствующими функциональному взаимодействию CD40/CD40L, страдают от синдрома гипер-IgM первичного иммунодефицита, сцепленного с X-хромосомой, который характеризуется избыточным присутствием циркулирующих IgM и неспособностью продуцировать IgG, IgA и IgE. У этих пациентов наблюдается подавление вторичного гуморального иммунного ответа, повышенная восприимчивость к рецидивирующим пирогенным инфекциям и более высокая частота карцином и лимфом. Эксперименты на мышах с нокаутом гена по инактивации локуса CD40 или CD40L воспроизводят основные дефекты, наблюдаемые у пациентов с X-сцепленным гипер-IgM синдромом. У этих КО мышей также наблюдается нарушение праймирования антиген-специфических Т-клеток, что позволяет предположить, что взаимодействие CD40L/CD40 также является критическим фактором для усиления клеточно-опосредованного иммунного ответа. См., например, публикацию Elgueta et al., *Immunol. Rev.* 229:152-172 (2009).

[0100] Иммуностимулирующие эффекты лигирования CD40 с помощью CD40L или анти-CD40 *in vivo* коррелируют с иммунными ответами против сингенных опухолей. См., например, публикацию French et al., *Nat. Med.* 5:548-553 (1999). Недостаточный иммунный ответ против опухолевых клеток может быть результатом комбинации факторов, таких как

экспрессия молекул иммунных контрольных точек, таких как PD1 или CTLA-4, сниженная экспрессия антигенов МНС, слабая экспрессия опухолеассоциированных антигенов, соответствующая адгезия или ко-стимулирующие молекулы и продукция иммунодепрессивных белков, таких как TGFβ, опухолевыми клетками. Лигирование CD40 на антигенпредставляющих и трансформированных клетках приводит к усилению активации адгезионных белков (например, CD54), костимулирующих молекул (например, CD86) и антигенов МНС, а также к секреции воспалительных цитокинов, тем самым потенциально индуцируя и/или усиливая противоопухолевый иммунный ответ, а также иммуногенность опухолевых клеток. См., например, публикацию Gajewski et al., Nat. Immunol. 14:1014-1022 (2013).

[0101] Первичным последствием перекрестного связывания CD40 является активация DC (часто называемая лицензированием) и усиление способности миелоидных и В-клеток процессировать и представлять опухолеассоциированные антигены Т-клеткам. Помимо непосредственной способности активировать врожденный иммунный ответ, уникальным следствием передачи сигналов CD40 является APC-представление антигенов опухолевого происхождения предшественникам CD8⁺ цитотоксических Т-клеток (CTL) в процессе, известном как «кросс-прайминг». Эта CD40-зависимая активация и дифференцировка предшественников CTL зрелыми DC в опухолеспецифические эффекторные CTL может усиливать клеточно-опосредованные иммунные ответы против опухолевых клеток. См., например, публикацию Kurts et al., Nat. Rev. Immunol. 10:403-414 (2010).

[0102] Агонистические моноклональные антитела CD40, включая дацетузумаб, исходную молекулу SEA-CD40 (фукозилированное антитело анти-CD40), продемонстрировали обнадеживающую клиническую активность в условиях монотерапии и комбинированной химиотерапии. Дацетузумаб продемонстрировал некоторую клиническую активность в исследовании фазы 1 при NHL и в исследовании фазы 2 при диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфоме (DLBCL). См., например, публикации Advani et al., J. Clin. Oncol. 27:4371-4377 (2009) и De Vos et al., J. Hematol. Oncol. 7:1-9 (2014). Кроме того, CP-870,893, гуманизированное антитело-агонист IgG2 к CD40, продемонстрировало обнадеживающую активность при солидных опухолях в комбинации с паклитакселом, карбоплатином или гемцитабином. В этих исследованиях наблюдали активацию антигенпредставляющих клеток, продукцию цитокинов и образование антигенспецифических Т-клеток. См., например, публикации Beatty et al., Clin. Cancer Res. 19:6286-6295 (2013) и Vonderheide et al., Oncoimmunology 2:e23033 (2013)

Антитела анти-CD40

[0103] Антитела к CD40, *например*, S2C6, были раскрыты в US 20170333556A1, который включен в настоящий документ в качестве ссылки. Антитело S2C6 является частичным агонистом сигнального пути CD40 и, таким образом, обладает следующими активностями: связывание с белком CD40 человека, связывание с белком CD40 яванского макака, активация сигнального пути CD40, потенцирование взаимодействия CD40 с его

лигандом, CD40L. См., например, патент США № 6 946 129, который включен в настоящее описание посредством ссылки.

[0104] Гуманизированные антитела анти-CD40, *например*, гуманизированные S2C6 (hS2C6), были описаны в публикациях US 8303955B2 и US 8492531B2, обе из которых включены в данный документ посредством ссылки.

[0105] Нефукозилированные антитела анти-CD40, *например*, hS2C6 или SEA-CD40, описаны в US 20170333556A1. Помимо усиленного связывания с Fc-рецепторами, SEA-CD40 также усиливает активность пути CD40 по сравнению с исходным антителом, дацетузамабом. Таким образом, антитело SEA-CD40 вводят пациентам в более низких дозах и посредством различных схем введения.

[0106] SEA-CD40 проявляет усиленное связывание с рецепторами FcγIII и повышенную способность активировать сигнальный путь CD40 в иммунных клетках, как описано в US 20170333556A1. Способы получения нефукозилированных антител, включая SEA-CD40, также описаны в US 20170333556A1.

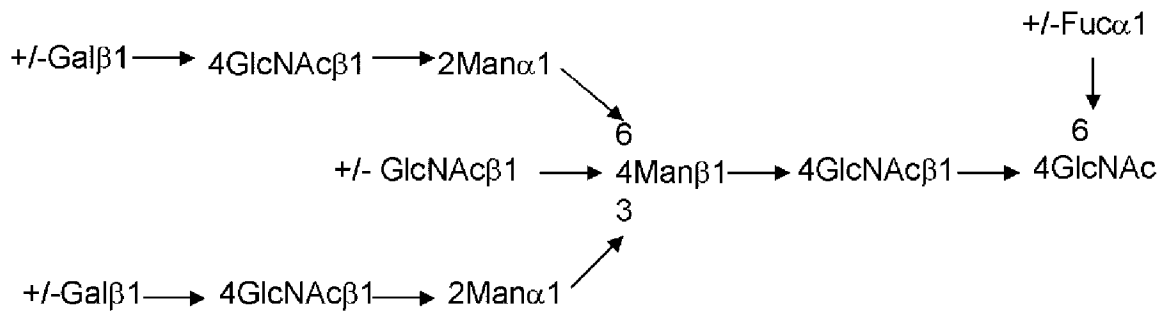
[0107] Аминокислотные последовательности тяжелой цепи и легкой цепи для SEA-CD40 описаны как SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно (см. **Фиг. 4**). Как описано в US 20170333556A1, варибельная область тяжелой цепи состоит из аминокислот 1-113 из SEQ ID NO: 1. Варибельная область легкой цепи состоит из аминокислот 1-113 из SEQ ID NO: 2.

[0108] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения гуманизированное антитело анти-CD40, описанное в настоящем документе, применимо для лечения различных нарушений, ассоциированных с экспрессией CD40, как описано в данном документе. Поскольку SEA-CD40 активирует иммунную систему для ответа на антигены, связанные с опухолью, его применение не ограничивается раковыми заболеваниями, экспрессирующими CD40. Таким образом, SEA-CD40 можно применять для лечения как CD40-положительного, так и CD40-отрицательного рака.

Способы получения нефукозилированных антител

[0109] В этом изобретении представлены композиции и способы получения гуманизированных антител S2C6 с пониженным фукозилированием ядра. В контексте данного документа термин «фукозилирование ядра» относится к присоединению фукозы («фукозилирование») к N-ацетилглюкозамину («GlcNAc») на восстанавливающем конце N-связанного гликана.

[0110] Фукозилирование сложных связанных с N-гликозидом сахарных цепей, связанных с Fc-областью (или доменом) каркаса антитела SEA-CD40, снижается. В контексте данного документа термин «сложная сахарная цепь, связанная с N-гликозидом» обычно связана с аспарагином 297 (в соответствии с индексом EU, изложенным в публикации Kabat, «Sequences of Immunological Interest», 5th Ed., Pub. No. 91-3242, U.S. Dept. Health & Human Services, NIH, Бетесда, штат Мэриленд, 1991). В контексте данного документа термин «сложная сахарная цепь, связанная с N-гликозидом» представляет собой двухантенную составную сахарную цепь, в основном имеющую следующую структуру:



[0111] где+указывает, что молекула сахара может присутствовать или отсутствовать, а цифры указывают на положение связей между молекулами сахара. В приведенной выше структуре конец сахарной цепи, который связывается с аспарагином, называется восстанавливающим концом (справа), а противоположная сторона называется невосстанавливающим концом. Фукоза обычно связана с N-ацетилглюкозамин («GlcNAc») восстанавливающего конца, как правило, с помощью α1,6-связи (положение 6 GlcNAc связано с положением 1 фукозы). «Gal» относится к галактозе, а «Man» относится к маннозе.

[0112] «Сложная сахарная цепь, связанная с N-гликозидом» включает 1) сложный тип, в котором невосстанавливающая концевая сторона структуры ядра имеет одну или большее количество ветвей галактозо-N-ацетилглюкозамина (также обозначаемых как «gal-GlcNAc»), а невосстанавливающая концевая сторона Gal-GlcNAc необязательно содержит сиаловую кислоту, расщепляющую пополам N-ацетилглюкозамин или тому подобное; или 2) гибридный тип, в котором невосстанавливающая концевая сторона структуры ядра имеет обе ветви сахарной цепи, связанной N-гликозидом с высоким содержанием маннозы, и сложной сахарной цепи, связанной N-гликозидом.

[0113] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения «сложная сахарная цепь, связанная с N-гликозидом» включает сложный тип, в котором невосстанавливающая концевая сторона структуры ядра имеет ноль, одну или большее количество ветвей галактозо-N-ацетилглюкозамина (также называемых «gal-GlcNAc»), а невосстанавливающая концевая сторона Gal-GlcNAc необязательно дополнительно имеет такую структуру, как сиаловая кислота, расщепляющую пополам N-ацетилглюкозамин или тому подобное.

[0114] В соответствии с настоящими способами обычно только незначительное количество фукозы включается в сложную сахарную цепь (цепи), связанную с N-гликозидом, молекулы SEA-CD40. Например, в различных вариантах осуществления настоящего изобретения менее чем около 60%, менее чем около 50%, менее чем около 40%, менее чем около 30%, менее чем около 20%, менее чем около 15%, менее чем около 10%, менее чем около 5% или менее чем около 3% антитела имеют ядро, фукозилированное фукозой. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения около 2% антитела имеют ядро, фукозилированное фукозой.

[0115] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения только

незначительное количество аналога фукозы (или метаболита, или продукта аналога фукозы) включено в сложную цепь(и) сахара, связанную с N-гликозидом. Например, в различных вариантах осуществления настоящего изобретения менее чем около 40%, менее чем около 30%, менее чем около 20%, менее чем около 15%, менее чем около 10%, менее чем около 5% или менее чем около 3% антитела SEA-CD40 имеет ядро, фукозилированное аналогом фукозы, или метаболитом, или продуктом аналога фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения около 2% антитела SEA-CD40 имеет ядро, фукозилированное аналогом фукозы, или метаболитом, или продуктом аналога фукозы.

[0116] Способы получения нефукозилированных антител путем инкубации клеток, продуцирующих антитела, с аналогом фукозы описаны, например, в публикации WO/2009/135181. Вкратце, клетки, сконструированные для экспрессии гуманизированного антитела S2C6, инкубируют в присутствии аналога фукозы или внутриклеточного метаболита или продукта аналога фукозы. В контексте данного документа внутриклеточный метаболит может быть, например, GDP-модифицированным аналогом или аналогом, полностью или частично дезацетицированным. Продукт может быть, например, полностью или частично дезацетицированным аналогом. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения аналог фукозы может ингибировать фермент(ы) в пути утилизации фукозы. Например, аналог фукозы (или внутриклеточный метаболит или продукт аналога фукозы) может ингибировать активность фукокиназы или GDP-фукозо-пирофосфорилазы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения аналог фукозы (или внутриклеточный метаболит или продукт аналога фукозы) ингибирует фукозилтрансферазу (предпочтительно 1,6-фукозилтрансферазу, например, белок FUT8). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения аналог фукозы (или внутриклеточный метаболит или продукт аналога фукозы) может ингибировать активность фермента в пути синтеза фукозы *de novo*. Например, аналог фукозы (или внутриклеточный метаболит или продукт аналога фукозы) может ингибировать активность GDP-маннозо-4,6-дегидратазы или/или GDP-фукозо-синтетазы. В некоторых вариантах реализации аналог фукозы (или внутриклеточный метаболит или продукт аналога фукозы) может ингибировать переносчик фукозы (*например*, переносчик GDP-фукозы).

[0117] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения аналог фукозы представляет собой 2-фторфукозу. Способы применения аналогов фукозы в питательной среде и других аналогов фукозы описаны, например, в WO/2009/135181, которая включена в данное описание посредством ссылки.

[0118] Другие методы конструирования клеточных линий для уменьшения фукозилирования ядра включали нокауты генов, нокауты генов и РНК-интерференцию (РНКi). При нокауте гена инактивируется ген, кодирующий FUT8 (фермент альфа-1,6-фукозилтрансфераза). FUT8 катализирует перенос фукозильного остатка из GDP-фукозы в положение 6 Asn-связанного (N-связанного) GlcNac N-гликана. Сообщается, что FUT8

является единственным ферментом, ответственным за добавление фукозы к N-связанному биантеннарному углеводу в Asn297. Нокауты генов добавляют гены, кодирующие ферменты, такие как GNTIII или альфа-маннозидаза Гольджи II. Повышение уровня таких ферментов в клетках отклоняет моноклональные антитела от пути фукозилирования (что приводит к снижению фукозилирования ядра) с повышенным количеством расщепляющихся пополам N-ацетилглюкозаминов. РНКi обычно также нацелена на экспрессию гена FUT8, что приводит к снижению уровня транскриптов mРНК или полному отключению экспрессии гена. Любой из этих способов можно применять для создания клеточной линии, которая может продуцировать нефукозилированное антитело, например, антитело SEA-CD40.

[0119] Специалистам в данной области техники будет понятно, что существует множество способов определения степени фукозилирования антитела. Указанные способы включают, например, LC-MS посредством хроматографии PLRP-S и квадрупольной TOF MS с ионизацией электрораспылением.

[0120] Нефукозилированное антитело, SEA-CD40, при введении пациенту индуцирует активацию созревания моноцитов в макрофаги и индуцирует выработку цитокинов, включая, например, интерферон- γ (IFN- γ) и хемокин, которые вызывают сильный Т-клеточный ответ на стимуляцию иммунной системы. В отличие от полностью агонистических антител, таких как антитело 24.4.1., SEA-CD40 не индуцирует выработку подавляющих иммунитет цитокинов, таких как интерлейкин-10 (IL-10). IL-10, в свою очередь, индуцирует активность Т-регуляторных клеток, которые подавляют иммунный ответ. Таким образом, SEA-CD40 является пригодным для индукции сильного иммунного ответа, опосредованного Т-клетками, без стимулирования активности Т-регуляторных клеток.

[0121] В некоторых вариантах своего осуществления настоящее изобретение относится к композиции, содержащей нефукозилированное антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, при этом константная область антитела, такого как SEA-CD40, имеет связанную с N-гликозидом сахарную цепь на остатке N297 в соответствии с индексом EU; и при этом менее 40%, менее 30%, менее 20%, менее 15%, менее 10%, менее 5%, менее 3%, менее 2% N-гликозид-связанных сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 20% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 10% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 5% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 3% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 2% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы.

[0122] В некоторых вариантах своего осуществления настоящее изобретение относится к лечению рака путем введения композиции, содержащей нефукозилированное антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, при этом константная область антитела, такого как SEA-CD40, имеет связанную с N-гликозидом сахарную цепь на остатке N297 в соответствии с индексом EU; и при этом менее 40%, менее 30%, менее 20%, менее 15%, менее 10%, менее 5%, менее 3%, менее 2% N-гликозид-связанных сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 20% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 10% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 5% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 3% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения менее 2% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы.

[0123] Гуманизированное антитело анти-CD40 или агент вводят любым подходящим способом, в том числе парентерально, подкожно, внутривенно, внутримышечно и интраназально, и, если желательно для местного иммуносупрессивного лечения, путем введения внутрь очага поражения (включая перфузию или иной контакт трансплантата с антителом до трансплантации). Гуманизированное антитело анти-CD40 или агент можно вводить, например, в виде инфузии или болюса. Парентеральные инфузии включают внутримышечное, внутривенное, внутриаартериальное, внутривенное или подкожное введение. Кроме того, гуманизированное антитело анти-CD40 пригодно для введения путем пульсовой инфузии, в частности, с уменьшающимися дозами антитела. В одном аспекте дозу вводят с помощью инъекций, наиболее предпочтительно внутривенных или подкожных инъекций, частично в зависимости от того, является ли введение кратковременным или постоянным.

[0124] Для профилактики или лечения заболевания подходящая доза антитела будет зависеть от множества факторов, таких как тип заболевания, подлежащего лечению, как определено выше, тяжесть и течение заболевания, вводят ли антитело в профилактических или терапевтических целях, предшествующая терапия, анамнез болезни пациента и ответ на антитело, а также на усмотрение лечащего врача. Антитело является пригодным для введения пациенту за один раз или в течение курсов лечения.

[0125] Композиция антитела будет составлена, дозирована и введена в соответствии с принципами надлежащей медицинской практики. Факторы, которые следует учитывать в этом контексте, включают конкретное заболевание, подлежащее лечению, конкретное молокопитающее, подлежащее лечению, клиническое состояние отдельного пациента, причину нарушения, место доставки агента, способ введения, схему введения и другие факторы, известные практикующим врачам. «Терапевтически эффективное количество»

вводимого антитела будет определяться такими соображениями и представляет собой минимальное количество, необходимое для предотвращения, облегчения или лечения раковых заболеваний, включая рак. Поскольку SEA-CD40 активирует иммунную систему для ответа на антигены, связанные с опухолью, его применение не ограничивается раковыми заболеваниями, экспрессирующими CD40. Таким образом, SEA-CD40 можно применять для лечения как CD40-положительного, так и CD40-отрицательного рака.

[0126] Антитело не обязательно должно быть, но необязательно, составлено с одним или большим количеством агентов, применяемых в настоящее время для предотвращения или лечения нарушения, представляющего интерес. Эффективное количество таких других агентов зависит от количества гуманизированного антитела анти-CD40, присутствующего в составе, типа нарушения или лечения и других факторов, обсуждавшихся выше. Они обычно применяются в тех же дозах и с теми же путями введения, что и ранее, или от около 1 до 99% ранее применявшихся доз.

[0127] Антагонисты PD-1, пригодные для способов лечения, лекарственных средств и применений по настоящему изобретению, включают моноклональное антитело (mAb) или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывается с PD-1 или PD-L1 и, предпочтительно, специфически связывается с PD-1 человека или PD-L1 человека. mAb может быть человеческим антителом, гуманизированным антителом или химерным антителом и может включать человеческую константную область. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения константную область человека выберут из группы, состоящей из константных областей IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, и в предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения константная область человека представляет собой константную область IgG1 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий фрагмент выбирают из группы, состоящей из Fab, Fab'-SH, F(ab')₂, scFv и фрагменты Fv.

[0128] Примеры mAb, которые связываются с PD-1 человека и пригодные для способов лечения, лекарственных средств и применений по настоящему изобретению, описаны в US 7488802, US 7521051, US 8008449, US 8354509, US 8168757, WO2004/004771, WO2004/072286, WO2004/056875 и US2011/0271358. Специфические mAb против PD-1 человека, пригодные в качестве антагониста PD-1 для способов лечения, лекарственных средств и применений по настоящему изобретению, включают: пембролизумаб (также известный как MK-3475), гуманизированное mAb IgG4 со структурой, описанной в *WHO Drug Information*, Vol. 27, № 2, страницы 161-162 (2013) и который содержит аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепей, приведенные в Таблице 2; ниволумаб (BMS-936558), mAb IgG4 человека со структурой, описанной в *WHO Drug Information*, Vol. 27, № 1, стр. 68-69 (2013); гуманизированные антитела h409A11, h409A16 и h409A17, которые описаны в WO 2008/156712, и AMP-514, которое разрабатывается компанией MedImmune.

[0129] Примеры mAb, которые связываются с PD-L1 человека и пригодные для способов лечения, лекарственных средств и применений по настоящему изобретению,

описаны в WO 2013/019906, W02010/077634 A1 и US 8383796. Специфические mAb против PD-L1 человека, пригодные в качестве антагониста PD-1 для способов лечения, лекарственных средств и применений по настоящему изобретению, включают MPDL3280A, BMS-936559, MEDI4736, MSB0010718C и антитело, которое содержит переменные области тяжелой цепи и легкой цепи SEQ ID NO: 24 и SEQ ID NO: 21, соответственно, из публикации WO 2013/019906.

[0130] Другие антагонисты PD-1, пригодные для способов лечения, лекарственных средств и применений по настоящему изобретению, включают иммуноадгезин, который специфически связывается с PD-1 или PD-L1 и предпочтительно специфически связывается с PD-1 человека или PD-L1 человека, например, слитый белок, содержащий внеклеточную или PD-1-связывающую часть PD-L1 или PD-L2, слитые с константной областью, такой как Fc-область молекулы иммуноглобулина. Примеры молекул иммуноадгезии, которые специфически связываются с PD-1, описаны в публикациях WO 2010/027827 и WO 2011/066342. Специфические слитые белки, пригодные в качестве антагониста PD-1 для способов лечения, лекарственных средств и применений по настоящему изобретению, включают AMP-224 (также известный как B7-DCIg), который представляет собой слитый белок PD-L2-FC и связывается с PD-1 человека.

[0131] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления способов лечения, лекарственных средств и применений по настоящему изобретению антагонист PD-1 представляет собой моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который содержит: (a) CDR легкой цепи SEQ ID NO: 3, 4 и 5 и (b) CDR тяжелой цепи SEQ ID NO: 6, 7 и 8.

[0132] В других предпочтительных вариантах осуществления способов лечения, лекарственных средств и применений по настоящему изобретению антагонист PD-1 представляет собой моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с PD-1 человека и содержит (a) переменную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 11 или ее вариант, и (b) переменную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 6 или ее вариант. Вариант последовательности переменной области тяжелой цепи идентичен эталонной последовательности, за исключением того, что содержит до 17 консервативных аминокислотных замен в каркасной области (т.е. вне CDR), и предпочтительно имеет менее десяти, девяти, восьми, семи, шести или пяти консервативных аминокислотных замен в каркасной области. Вариант последовательности переменной области легкой цепи идентичен эталонной последовательности, за исключением того, что содержит до пяти замен консервативных аминокислот в каркасной области (т.е. вне CDR), и предпочтительно содержит менее четырех, трех или двух консервативных аминокислотных замен в каркасной области.

[0133] В другом предпочтительном варианте осуществления способов лечения, лекарственных средств и применений по настоящему изобретению антагонист PD-1 представляет собой моноклональное антитело, которое специфически связывается с PD-1 человека и содержит (a) тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 12, и (b) легкую цепь,

содержащую SEQ ID NO: 7.

[0134] Во всех указанных выше способах лечения, лекарственных средствах и применениях антагонист PD-1 ингибирует связывание PD-L1 с PD-1 и предпочтительно также ингибирует связывание PD-L2 с PD-1. В некоторых вариантах осуществления вышеуказанного способа лечения, лекарственных средств и применений антагонист PD-1 представляет собой моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывается с PD-1 или с PD-L1 и блокирует связывание PD-L1 с PD-1. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антагонист PD-1 представляет собой антитело анти-PD-1, которое содержит тяжелую цепь и легкую цепь, при этом тяжелая и легкая цепи содержат аминокислотные последовательности в SEQ ID NO: 12 и SEQ ID NO: 7 соответственно.

[0135] В одном варианте осуществления настоящего изобретения антагонист PD-1 представляет собой антитело анти-PD-1. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой пембролизумаб. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой вариант пембролизумаба.

[0136] В приведенной ниже Таблице 2 представлен перечень аминокислотных последовательностей иллюстративных mAb анти-PD-1, пригодных для способов лечения, лекарственных средств и применений по настоящему изобретению.

[0137] Таблица 2. Последовательности типовых антител к PD-1

Характеристика антитела	Последовательность аминокислот	SEQ ID NO.
Пембролизумаб, легкая цепь		
CDR1	RASKGVSTSGYSYLH	3
CDR2	LASYLES	4
CDR3	QHSRDLPLT	5
Вариабельная область	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQ QKPGQAPRLLIYLA SYLESGV PARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGG TKVEIK	6
Легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQ QKPGQAPRLLIYLA SYLESGV PARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQ E SVTEQDSKDSSTLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC	7
Пембролизумаб, тяжелая цепь		
CDR1	NYMY	8
CDR2	GINPSNGGTNFNEKFKN	9
CDR3	RDYRFDMGFDY	10
Вариабельная область	QVQLVQSGVEVKKPGASVKV SCKASGYTFTNYYMYWVR QAPGQGLEWMGGINPSNGGT NFNEKFKNRVTLTDSSTTT AYMELKSLQFDDTAVYYCARR DYRFDMGFDYWGGQGT TVSS	11

Характеристика антитела	Последовательность аминокислот	SEQ ID NO.
Тяжелая цепь	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVR QAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTTDSSTTT AYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTTV TVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTK TYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKS LSLSLGK	12

Доза и введение антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40, для лечения рака

[0138] Фармацевтические композиции для парентерального введения предпочтительно являются стерильными и по существу изотоническими и производятся в соответствии с требованиями GMP. Фармацевтические композиции могут быть предоставлены в виде стандартной лекарственной формы (т.е. дозировка для однократного введения). Фармацевтические композиции могут быть составлены с применением одного или большего количества физиологически приемлемых носителей, разбавителей, вспомогательных или дополнительных веществ. Состав зависит от выбранного пути введения. Для инъекции, антитела могут быть приготовлены в виде водных растворов, предпочтительно в физиологически совместимых буферах, чтобы уменьшить дискомфорт в месте инъекции. Раствор может содержать составные агенты, такие как суспендирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие агенты. В альтернативном варианте антитела могут быть в лиофилизированной форме для разведения подходящим носителем, например, стерильной апиrogenной водой, перед применением.

[0139] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят внутривенно. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят подкожно. В другом варианте осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят подкожно в место опухоли.

[0140] SEA-CD40 представляет собой агонистическое антитело и имеет усиленное связывание с рецепторами Fcγ III и проявляет усиленную активацию сигнального пути CD40. Из-за усиленной активации пути CD40 SEA-CD40 является мощным активатором иммунной системы. Повышенная активация иммунной системы позволяет вводить SEA-CD40 на низких уровнях по сравнению с фукозилированным исходным антителом.

[0141] Например, антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, можно вводить пациентам в количестве от около 0,1 до около 70 мкг/кг (мкг антитела на килограмм массы тела пациента). Другие возможные диапазоны доз включают от около 1 мкг/кг до около 60 мкг/кг, от около 10 мкг/кг до около 50 мкг/кг и от около 20 мкг/кг до около 40 мкг/кг.

Другие возможные диапазоны доз включают следующие: от около 1 мкг/кг до около 5 мкг/кг, от около 5 мкг/кг до около 10 мкг/кг, от около 10 мкг/кг до около 15 мкг/кг, от около 15 мкг/кг до от около 20 мкг/кг, от около 20 мкг/кг до около 25 мкг/кг, от около 25 мкг/кг до около 30 мкг/кг, от около 30 мкг/кг до около 35 мкг/кг, от около 35 мкг/кг до около 40 мкг/кг, от около 40 мкг/кг до около 45 мкг/кг, от около 45 мкг/кг до около 50 мкг/кг, от около 50 мкг/кг до около 55 мкг/кг и от около 55 мкг/кг до около 60 мкг/кг.

[0142] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят пациентам в дозах около 1 мкг/кг, около 2 мкг/кг, около 3 мкг/кг, около 4 мкг/кг, около 5 мкг/кг, около 6 мкг/кг, около 7 мкг/кг, около 8 мкг/кг, около 9 мкг/кг, около 10 мкг/кг, около 11 мкг/кг, около 12 мкг/кг, около 13 мкг/кг, около 14 мкг /кг, около 15 мкг/кг, около 16 мкг/кг, около 17 мкг/кг, около 18 мкг/кг, около 19 мкг/кг, около 20 мкг/кг, около 21 мкг/кг, около 22 мкг/кг, около 23 мкг/кг, около 24 мкг/кг, около 25 мкг/кг, около 26 мкг/кг, около 27 мкг/кг, около 28 мкг/кг, около 29 мкг/кг, около 30 мкг/кг, около 31 мкг/кг, около 32 мкг/кг, около 33 мкг/кг, около 34 мкг/кг, около 35 мкг/кг, около 36 мкг/кг, около 37 мкг/кг, около 38 мкг/кг, около 39 мкг /кг, около 40 мкг/кг, около 41 мкг/кг, около 42 мкг/кг, около 43 мкг/кг, около 44 мкг/кг, около 45 мкг/кг, около 46 мкг/кг, около 47 мкг/кг, около 48 мкг/кг, около 49 мкг/кг, около 50 мкг/кг, около 51 мкг/кг, около 52 мкг/кг, около 53 мкг/кг, около 54 мкг/кг, около 55 мкг/кг, около 56 мкг/кг, около 57 мкг/кг, около 58 мкг/кг, около 59 мкг/кг, около 60 мкг/кг, около 61 мкг/кг, около 62 мкг/кг, около 63 мкг/кг, около 64 мкг/кг, около 65 мкг/кг, около 66 мкг /кг, около 67 мкг/кг, около 68 мкг/кг, около 69 мкг/кг или около 70 мкг/кг. В предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят пациентам в дозе около 3 мкг/кг, около 10 мкг/кг, около 30 мкг/кг, около 45 мкг/кг или около 60 мкг/кг. В более предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят онкологическим пациентам в дозе около 30 мкг/кг или около 10 мкг/кг. В другом более предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят онкологическим пациентам в дозе около 10 мкг/кг. В еще одном более предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят онкологическим пациентам в дозе около 30 мкг/кг.

[0143] Антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, можно вводить с различными интервалами, включая интервалы в одну неделю, интервалы в две недели, интервалы в три недели, интервалы в четыре недели, интервалы в пять недель, интервалы в шесть недель, интервалы в семь недель, интервалы в восемь недель, интервалы в девять недель, интервалы в десять недель, интервалы в одиннадцать недель, интервалы в двенадцать недель и т. д. Другими словами, антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, можно вводить каждую неделю, каждые две недели, каждые три недели, каждые четыре недели, каждые пять недель, каждые шесть недель, каждые семь недель, каждые восемь недель, каждые девять недель, каждые десять недель, каждые одиннадцать недель, каждые двенадцать недель и т. д. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения интервалы

соответствуют ежемесячной схеме, например, интервалы в один месяц, интервалы в два месяца или интервалы в три месяца. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения интервалы основаны на циклах, при этом каждый цикл может включать одно или большее количество введений антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40. Типовая продолжительность каждого цикла включает одну неделю, две недели, три недели, четыре недели, пять недель, шесть недель, семь недель, восемь недель, девять недель, десять недель, одиннадцать недель и двенадцать недель. Продолжительность циклов может отличаться от одного цикла к другому. Антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, можно вводить в любой один или большее количество дней в каждом цикле. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в первый день цикла. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в первый день цикла из трех недель в период лечения, состоящего из одного цикла, двух циклов, трех циклов, четырех циклов, пяти циклов, шести циклов, семи циклов, восьми циклов, девяти циклов, десяти циклов, одиннадцати циклов, двенадцати циклов, тринадцати циклов, четырнадцати циклов, пятнадцати циклов или шестнадцати циклов.

[0144] Антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, можно вводить в день 1, день 2, день 3, день 4, день 5, день 6 или день 7 каждого 1-недельного цикла, т.е. антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят каждую неделю, начиная со дня 1, дня 2, дня 3, дня 4, дня 5, дня 6 или дня 7 схемы лечения. Антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, можно вводить в день 1, день 2, день 3, день 4, день 5, день 6, день 7, день 8, день 9, день 10, день 11, день 12, день 13 или день 14 каждого 2-недельного цикла, т.е. антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят каждые две недели, начиная со дня 1, дня 2, дня 3, дня 4, дня 5, дня 6, дня 7, дня 8, дня 9, дня 10, дня 11, дня 12, дня 13 или дня 14 схемы лечения. Антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, можно вводить в день 1, день 2, день 3, день 4, день 5, день 6, день 7, день 8, день 9, день 10, день 11, день 12, день 13, день 14, день 15, день 16, день 17, день 18, день 19, день 20 или день 21 каждого 3-недельного цикла, т.е., антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят каждые три недели, начиная со дня 1, дня 2, дня 3, дня 4, дня 5, дня 6, дня 7, дня 8, дня 9, дня 10, дня 11, дня 12, дня 13, дня 14, дня 15, дня 16, дня 17, дня 18, дня 19, дня 20 или дня 21 схемы лечения. Антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, можно вводить в день 1, день 2, день 3, день 4, день 5, день 6, день 7, день 8, день 9, день 10, день 11, день 12, день 13, день 14, день 15, день 16, день 17, день 18, день 19, день 20, день 21, день 22, день 23, день 24, день 25, день 26, день 27 или день 28 каждого 4-недельного цикла, т.е. антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят каждые четыре недели, начиная со дня 1, дня 2, дня 3, дня 4, дня 5, дня 6, дня 7, дня 8, дня 9, дня 10, дня 11, дня 12, дня 13, дня 14, дня 15, дня 16, дня 17, дня 18, дня 19, дня 20, дня 21, дня 22, дня 23, дня 24, дня 25, дня 26, дня 27 или дня 28 схемы лечения. Антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, можно вводить в день 1, день 2, день 3, день 4, день 5, день 6, день 7, день 8, день 9, день 10, день 11, день 12, день 13, день 14, день 15, день 16, день 17, день 18, день 19, день 20, день 21, день 22, день 23, день 24, день 25, день 26, день 27, день 28, день 29,

день 30, день 31, день 32, день 33, день 34 или день 35 каждого 5-недельного цикла, т.е., антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят каждые пять недель, начиная со дня 1, дня 2, дня 3, дня 4, дня 5, дня 6, дня 7, дня 8, дня 9, дня 10, дня 11, дня 12, дня 13, дня 14, дня 15, дня 16, дня 17, дня 18, дня 19, дня 20, дня 21, дня 22, дня 23, дня 24, дня 25, дня 26, дня 27, дня 28, дня 29, дня 30, дня 31, дня 32, дня 33, дня 34 или дня 35 схемы лечения. Антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, можно вводить в день 1, день 2, день 3, день 4, день 5, день 6, день 7, день 8, день 9, день 10, день 11, день 12, день 13, день 14, день 15, день 16, день 17, день 18, день 19, день 20, день 21, день 22, день 23, день 24, день 25, день 26, день 27, день 28, день 29, день 30, день 31, день 32, день 33, день 34, день 35, день 36, день 37, день 38, день 39, день 40, день 41 или день 42 каждого 6-недельного цикла, т.е., антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят каждые шесть недель, начиная со дня 1, дня 2, дня 3, дня 4, дня 5, дня 6, дня 7, дня 8, дня 9, дня 10, дня 11, дня 12, дня 13, дня 14, дня 15, дня 16, дня 17, дня 18, дня 19, дня 20, дня 21, дня 22, день 23, день 24, день 25, день 26, день 27, день 28, день 29, день 30, день 31, день 32, день 33, день 34, день 35, день 36, день 37, день 38, день 39, день 40, день 41 или день 42 схемы лечения.

[0145] В этом изобретении цикл введения описывается в терминах дней или недель взаимозаменяемо, как будет понятно специалисту в данной области техники. Например, 1-недельный цикл введения аналогичен 7-дневному циклу введения; 2-недельный цикл введения аналогичен 14-дневному циклу введения; 3-недельный цикл введения аналогичен 21-недельному циклу введения; и т.п.

Доза и введение пембролизумаба для лечения рака в комбинации с антителом анти-CD40

[0146] Пембролизумаб можно вводить в дозе 200 мг или 2 мг/кг один раз в три недели. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения пембролизумаб вводят по 400 мг один раз в шесть недель.

[0147] Пембролизумаб можно вводить с различными интервалами, включая трехнедельные и шестинедельные интервалы. Другими словами, пембролизумаб можно вводить каждые три недели или каждые шесть недель. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения интервалы основаны на циклах, при этом каждый цикл может включать одно или большее количество введений пембролизумаба. Типовая продолжительность каждого цикла включает три недели и шесть недель. Продолжительность циклов может отличаться от одного цикла к другому. Пембролизумаб можно вводить в любой один или большее количество дней в каждом цикле.

[0148] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, в качестве альтернативы пембролизумабу применяют другое антитело анти-PD-1 или антитело анти-PD-L1. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 выбирают из группы, состоящей из ниволумаба, цемиплимаба-gwlc, спартализумаба, АК105, тислелизумаба, достарлимаба, MEDI0680, пидилизумаба, AMP-224 и SHR-1210. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой пембролизумаб, ниволумаб или цемиплимаб-gwlc. В некоторых

вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PDL1 выбирают из группы, состоящей из атезолизумаба, дурвалумаба, авелумаба, SHR-1316, MEDI4736, BMS-936559/MDX-1105, MSB0010718C, MPDL3280A или энвафолимаба. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PDL1 представляет собой атезолизумаб, дурвалумаб или авелумаб.

Комбинированная терапия антителом анти-CD40 и пембролизумабом для лечения рака

[0149] Антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, можно применять в комбинации с пембролизумабом для лечения рака.

[0150] Схема лечения, включающая введение анти-CD40-антитела, такого как SEA-CD40, и введение пембролизумаба, может иметь различные схемы введения. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в двухнедельном цикле, а пембролизумаб вводят в трехнедельном цикле. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в трехнедельном цикле, и пембролизумаб также вводят в трехнедельном цикле. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в четырехнедельном цикле, а пембролизумаб вводят в трехнедельном цикле. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в двухнедельном цикле, а пембролизумаб вводят в шестинедельном цикле. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в трехнедельном цикле, а пембролизумаб вводят в шестинедельном цикле. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в четырехнедельном цикле, а пембролизумаб вводят в шестинедельном цикле. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в четырехнедельном цикле, а пембролизумаб вводят в трехнедельном цикле. В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в четырехнедельном цикле, а пембролизумаб вводят в шестинедельном цикле.

[0151] В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят перед введением пембролизумаба. Назначение пембролизумаба после SEA-CD40 может быть полезным, так как это снижает вероятность связывания пембролизумаба с иммунными клетками с последующим ослаблением иммунитета в результате усиленного клиренса клеток, связанных с пембролизумабом, посредством SEA-CD40. При комбинированной терапии первый день первого цикла введения каждого препарата начинается в один и тот же день.

[0152] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 1 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 2 первого цикла пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят

[illegible]

[0153] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 2 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 3 первого цикла пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 2 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 4 первого цикла пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 2 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 5 первого цикла пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 2 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 6 первого цикла пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело

анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 2 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 7 первого цикла пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 2 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 8 первого цикла пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 2 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 9 первого цикла пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 2 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 10 первого цикла пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 2 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 11 первого цикла пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 2 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 12 первого цикла пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 2 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 13 первого цикла пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 2 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 14 первого цикла пембролизумаба.

[illegible]

цикла пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 3 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 12 первого цикла пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 3 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 13 первого цикла пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 3 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 14 первого цикла пембролизумаба.

[illegible]

[0156] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 5 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 6 первого цикла пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 5 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 7 первого цикла пембролизумаба. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело

[0158] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 7 первого цикла антитела анти-CD40, а

такого как SEA-CD40, в первом цикле.

[0166] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения каждую дозу антитела анти-PD-1 вводят по меньшей мере через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 дней после введения дозы антитела анти-CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 и антитело анти-CD40 не вводят в один и тот же день. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения интервал между введением антитела анти-PD-1 и введением антитела анти-CD40 составляет по меньшей мере или около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12 или 24 часа или по меньшей мере или около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 или 14 дней.

[0167] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения пембролизумаб вводят в цикле примерно каждые 2-4 недели (например, примерно каждые 2 недели, примерно каждые 3 недели или примерно каждые 4 недели). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения пембролизумаб вводят в цикле каждые 14 дней, каждые 15 дней, каждые 16 дней, каждые 17 дней, каждые 18 дней, каждые 19 дней, каждые 20 дней, каждые 21 день, каждые 22 дня, каждые 23 дня, каждые 24 дня, каждые 25 дней, каждые 26 дней, каждые 27 дней или каждые 28 дней. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения пембролизумаб вводят в цикле примерно каждые 5-7 недель (например, примерно каждые 5 недель, примерно каждые 6 недель или примерно каждые 7 недель). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения пембролизумаб вводят в цикле каждые 35 дней, каждые 36 дней, каждые 37 дней, каждые 38 дней, каждые 39 дней, каждые 40 дней, каждый 41 день, каждые 42 дня, каждые 43 дня, каждые 44 дня, каждые 45 дня, каждые 46 дней, каждые 47 дней, каждые 48 дней или каждые 49 дней.

[0168] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения пембролизумаб вводят каждые 3 недели в дозе около 200 мг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения пембролизумаб вводят каждые 3 недели в дозе 200 мг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения пембролизумаб вводят каждые 3 недели в дозе около 2 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения пембролизумаб вводят каждые 6 недель в дозе около 400 мг.

Комбинированная терапия антителом анти-CD40 и химиотерапией

[0169] Комбинированную терапию антителом анти-CD40, таким как SEA-CD40, можно комбинировать с химиотерапией. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения комбинированная терапия антителом анти-CD40, таким как SEA-CD40, и пембролизумабом может быть дополнительно объединена с химиотерапией.

[0170] У большинства людей миллионы клеток погибают в результате апоптоза и удаляются, не вызывая иммунного ответа. Однако после лечения некоторыми химиотерапевтическими агентами наблюдали инфильтрацию опухолей иммунными клетками. Таким образом, некоторые опухолевые клетки, убитые химиотерапевтическими агентами, действуют как вакцины и вызывают опухолеспецифический иммунный ответ. Это явление называется иммуногенной гибелью клеток (ICD). См., например, публикацию

Kroemer et al., *Annu. Rev. Immunol.*, 31:51-72 (2013). Способность химиотерапевтического агента индуцировать ICD может быть определена экспериментально. Должны быть соблюдены два критерия. Во-первых, инъекция иммунокомпетентным мышам раковых клеток, обработанных *in vitro* химиотерапевтическим агентом, должна вызывать защитный иммунный ответ, специфичный в отношении опухолевых антигенов, в отсутствие адъюванта. Во-вторых, ICD, происходящая *in vivo*, например, в сингенной модели мыши с лечением химиотерапевтическим агентом, потенциально вызывающим ICD, должна вызывать иммунный ответ в опухоли, который зависит от иммунной системы.

[0171] Химиотерапевтические агенты, вызывающие ICD, включают, например, антрациклины, антитела анти-EGFR, бортезомиб, циклофосфамид, гемцитабин, облучение опухоли и оксалиплатин. Комбинацию антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40, и пембролизумаба можно применять в сочетании с любым из этих химиотерапевтических агентов для создания усиленного иммунного ответа и лечения рака у пациента. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения комбинированная терапия антителом анти-CD40, таким как SEA-CD40, и пембролизумабом применяется в сочетании с одним или большим количеством из следующих агентов: гемцитабин, дакарбазин, темозоломид, паклитаксел, паклитаксел, связанный с альбумином (наб-паклитаксел), или карбоплатин. ABRAXANE® представляет собой торговую марку паклитаксела, содержащего паклитаксел, связанный с альбумином. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения комбинированная терапия антителом анти-CD40, таким как SEA-CD40, и пембролизумабом применяется в сочетании как с химиотерапевтическим агентом гемцитабином, так и с паклитакселом/наб-паклитакселом.

[0172] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанная комбинированная терапия включает антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, пембролизумаб и химиотерапию. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапия, применяемая в комбинации, включает гемцитабин или паклитаксел. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапия, применяемая в комбинации, включает как гемцитабин, так и паклитаксел. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения паклитаксел представляет собой наб-паклитаксел, например, ABRAXANE®.

[0173] Химиотерапию, применяемую в комбинации, можно вводить в циклах. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанный цикл составляет 1 неделю, т. е. химиотерапию вводят каждую неделю. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанный цикл составляет 2 недели, т. е. химиотерапию вводят каждые 2 недели. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанный цикл составляет 3 недели, т. е. химиотерапию вводят каждые 3 недели. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанный цикл составляет 4 недели, т. е. химиотерапию вводят каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанный цикл составляет 5 недель, т. е. химиотерапию вводят каждые 5 недель. В некоторых вариантах осуществления настоящего

изобретения указанный цикл составляет 6 недель, т. е. химиотерапию вводят каждые 6 недель. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанный цикл составляет 7 недель, т. е. химиотерапию вводят каждые 7 недель. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанный цикл составляет 8 недель, т. е. химиотерапию вводят каждые 8 недель. В каждом цикле химиотерапию можно вводить один или большее количество раз.

[0174] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапию, применяемую в комбинации, вводят в 4-недельном цикле, то есть химиотерапию вводят каждые 4 недели, при этом химиотерапию вводят три раза в каждом цикле. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапию, вводимую в комбинации, вводят в дни 1, 8 и 15 в каждом цикле.

[0175] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапию, вводимую в комбинации, вводят в цикле примерно каждые 3-5 недель (например, примерно каждые 3 недели, примерно каждые 4 недели или примерно каждые 5 недель). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапию, вводимую в комбинации, вводят в цикле каждые 21 день, каждые 22 дня, каждые 23 дня, каждые 24 дня, каждые 25 дней, каждые 26 дней, каждые 27 дней, каждые 28 дней, каждые 29 дней, каждые 30 дней, каждые 31 день, каждые 32 дня, каждые 33 дня дней, каждые 34 дня или каждые 35 дней.

[0176] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапия, применяемая в комбинации, включает гемцитабин (например, INFUGEM™) и/или паклитаксел (например, ABRAXANE®). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения гемцитабин вводят 1 раз, 2 раза, 3 раза, 4 раза или 5 раз в каждом цикле. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения гемцитабин вводят в дни 1, 8 и 15 каждого цикла (например, 28-дневного цикла). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения гемцитабин вводят в дни 1 и 8 каждого цикла (например, 21-дневного цикла). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения гемцитабин вводят в дозе около 800-1500 мг/м², около 850 мг/м², около 900 мг/м², около 950 мг/м², около 1000 мг/м², около 1050 мг/м², около 1100 мг/м², около 1150 мг/м², около 1200 мг/м², около 1250 мг/м², около 1300 мг/м², около 1350 мг/м², около 1400 мг/м², около 1450 мг/м² или около 1500 мг/м²), например, в течение около 20-60 минут (например, около 20 минут, около 30 минут, около 40 минут, около 50 минут или около 60 минут). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения паклитаксел вводят 1 раз, 2 раза, 3 раза, 4 раза или 5 раз в каждом цикле. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения паклитаксел вводят в дни 1, 8 и 15 каждого цикла (например, 21-дневного цикла или 28-дневного цикла). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения паклитаксел вводят в дозе about 50-300 мг/м² (например, около 50 мг/м², около 60 мг/м², около 70 мг/м², около 80 мг/м², около 90 мг/м², около 100 мг/м², около 110 мг/м², около 120 мг/м², около 125 мг/м², около 130 мг/м², около 140 мг/м², около 150 мг/м², около 160 мг/м², около 170 мг/м², около 180 мг/м², около 190

мг/м², около 200 мг/м², около 210 мг/м², около 220 мг/м², около 230 мг/м², около 240 мг/м², около 250 мг/м², около 260 мг/м², около 270 мг/м², около 280 мг/м², около 290 мг/м² или около 300 мг/м²), например, в течение около 20-60 минут (например, около 20 минут, около 30 минут, около 40 минут, около 50 минут или около 60 минут).

[0177] В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения первое введение первого цикла химиотерапии проводят перед введением антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40, чтобы обеспечить высвобождение антигена из опухолевых клеток в результате химиотерапии. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапию проводят за 1 день до введения антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапию проводят за 2 дня до введения антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапию проводят за 3 дня до введения антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40. Ожидается, что это повысит способность антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40, вызывать противоопухолевый иммунный ответ. В частности, антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, может стимулировать обновление и представление антигена и, таким образом, ожидается, что оно будет наиболее эффективным при повышенных уровнях циркулирующего антигена. Кроме того, ожидание в течение 1-3 дней после химиотерапии перед введением антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40, может снизить вероятность синергетической токсичности.

[0178] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения каждую дозу антитела анти-CD40 вводят по меньшей мере через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 дней после дозы химиотерапии. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапию и антитело анти-CD40 не вводят в один и тот же день. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения интервал между введением химиотерапии и введением антитела анти-CD40 составляет по меньшей мере или около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12 или 24 часа или по меньшей мере или около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 или 14 дней.

[0179] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапию вводят в день 1 первого цикла химиотерапии, антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, вводят в день 3 первого цикла антитела анти-CD40, а пембролизумаб вводят в день 8 первого цикла пембролизумаба, при этом день 1 цикла химиотерапии, цикла антитела анти-CD40 и цикла пембролизумаба начинается в один и тот же день.

[0180] В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения комбинированная терапия включает химиотерапию, вводимую в день 1, день 8 и день 16 28-дневного цикла, антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40, вводимого в день 3 28-дневного цикла, и пембролизумаба, вводимого в день 8 42-дневного цикла. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения комбинированная терапия включает химиотерапию, вводимую в день 1, день 8 и день 16 28-дневного цикла, антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40, вводимого в день 3 28-дневного цикла, и пембролизумаба, вводимого в день 8 21-дневного цикла. [В предпочтительном варианте осуществления

настоящего изобретения комбинированная терапия включает химиотерапию, вводимую в день 1, день 8 и день 15 28-дневного цикла, антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40, вводимого в день 3 28-дневного цикла, и пембролизумаба, вводимого в день 8 42-дневного цикла. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения комбинированная терапия включает химиотерапию, вводимую в день 1, день 8 и день 15 28-дневного цикла, антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40, вводимого в день 3 28-дневного цикла, и пембролизумаба, вводимого в день 8 21-дневного цикла. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапия включает как гемцитабин, так и паклитаксел. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения паклитаксел представляет собой наб-паклитаксел, например, ABRAXANE®.

[0181] В одном аспекте настоящее изобретение относится к лечению рака поджелудочной железы с помощью комбинации химиотерапии, пембролизумаба и SEA-CD40, при этом указанную химиотерапию вводят в дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного цикла, и при этом SEA-CD40 вводят в день 3 каждого 28-дневного цикла, а пембролизумаб вводят в день 8 каждого 42-дневного цикла. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапия состоит из гемцитабина и наб-паклитаксела (ABRAXANE®). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения SEA-CD40 вводят внутривенно. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения SEA-CD40 вводят подкожно. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения пембролизумаб вводят в дозе 400 мг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения пембролизумаб вводят в дозе 200 мг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения SEA-CD40 вводят в дозе 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления SEA-CD40 вводят в дозе 30 мкг/кг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак поджелудочной железы представляет собой аденокарциному протоков поджелудочной железы (PDAC). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак поджелудочной железы представляет собой метастатическую аденокарциному протоков поджелудочной железы (PDAC).

[0182] В другом аспекте настоящее изобретение относится к лечению рака поджелудочной железы с помощью комбинации химиотерапии, антитела анти-PD-1 и SEA-CD40, при этом указанную химиотерапию вводят в дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного цикла, и при этом SEA-CD40 вводят в день 3 каждого 28-дневного цикла, а антитело анти-PD-1 вводят в день 8 каждого 42-дневного цикла. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапия состоит из гемцитабина и наб-паклитаксела (ABRAXANE®). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения SEA-CD40 вводят внутривенно. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения SEA-CD40 вводят подкожно. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения SEA-CD40 вводят в дозе 10 мкг/кг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения SEA-CD40 вводят в дозе 30 мкг/кг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак поджелудочной железы представляет собой аденокарциному протоков поджелудочной железы (PDAC). В некоторых вариантах

осуществления настоящего изобретения рак поджелудочной железы представляет собой метастатическую аденокарциному протоков поджелудочной железы (PDAC). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой пембролизумаб. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения пембролизумаб вводят в дозе 400 мг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения пембролизумаб вводят в дозе 200 мг.

Рак

[0183] Комбинированную терапию с применением антитела анти-CD40, такого как SEA-CD40, пембролизумаба и химиотерапии можно применять для лечения различных типов рака, включая, например, солидную опухоль или рак крови. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой меланому, рак молочной железы, включая метастатический рак молочной железы, рак легкого, включая немелкоклеточный рак легкого, рак поджелудочной железы, лимфому, колоректальный рак или рак почки. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой меланому; рак молочной железы, включая метастатический рак молочной железы; рак легкого, включая немелкоклеточный рак легкого; или рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак поджелудочной железы представляет собой аденокарциному протоков поджелудочной железы (PDAC). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения PDAC является метастатической.

[0184] Рак поджелудочной железы имеет один из самых высоких показателей смертности среди всех видов рака и является четвертой по частоте причиной смерти от рака среди взрослого населения в Соединенных Штатах - по оценкам, 42 470 случаев в год. См. публикации Nieto et al., *The Oncologist*, 13:562-576 (2008); и *Cancer Facts and Figures*, American Cancer Society (2009). На его долю приходится около 3% всех вновь диагностированных раковых заболеваний в Соединенных Штатах каждый год. Однако почти вдвое больше онкологических пациентов, около 6%, умирают от рака поджелудочной железы. См. публикацию *Cancer Facts and Figures*, American Cancer Society (2009). Высокий уровень смертности от рака поджелудочной железы является результатом высокой частоты метастатического заболевания на момент постановки диагноза. В результате только 5%-15% пациентов являются кандидатами для оперативного вмешательства, у которых опухоли поддаются резекции. См. публикацию Nieto et al., *The Oncologist*, 13:562-576 (2008).

[0185] В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения комбинированная терапия, включающая антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, пембролизумаб и химиотерапию, может применяться для лечения рака поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак поджелудочной железы представляет собой метастатическую аденокарциному протоков поджелудочной железы (PDAC).

[0186] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения комбинированная терапия, включающая антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40,

пембролизумаб и химиотерапию, применяются для лечения опухолей, которые, как известно, являются иммунными, особенно если рак экспрессирует низкие уровни CD40 или не экспрессирует CD40. Иммуночувствительные виды рака включают, например, меланому; рак мочевого пузыря; рак легкого, например, мелкоклеточный рак легкого и немелкоклеточный рак легкого; рак яичников; рак почки; рак поджелудочной железы; рак молочной железы; рак шейки матки; рак головы и шеи, рак предстательной железы; глиобластому; неходжкинскую лимфому; хронический лимфолейкоз; гепатоцеллюлярную карциному; и множественную миелому.

[0187] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения комбинированную терапию, включающая антитело анти-CD40, такое как SEA-CD40, пембролизумаб и химиотерапию, применяют для лечения солидных опухолей. В дополнительном варианте осуществления настоящего изобретения SEA-CD40 применяют для лечения рака крови, например, лимфомы, включая неходжкинскую лимфому и лимфому Ходжкина; хронический лимфолейкоз; или множественную миелому.

[0188] В настоящем изобретении также предлагаются способы изготовления комбинированных лекарственных средств для различных применений, как описано в данном документе. Комбинированный препарат может быть помещен в контейнер, упаковку, набор или дозатор вместе с инструкциями по применению.

[0189] Любой признак, этап, элемент, вариант осуществления или аспект изобретения можно применять в комбинации с любым другим, если специально не указано иное. Хотя настоящее изобретение было описано довольно подробно с помощью иллюстраций и примеров для ясности и понимания, будет очевидно, что некоторые изменения и модификации могут быть осуществлены в пределах объема прилагаемой формулы изобретения.

ПРИМЕРЫ

[0190] Настоящее изобретение дополнительно описано в следующих примерах, которые не ограничивают объем настоящего изобретения, описанный в формуле изобретения.

Пример 1: Лечение пациентов с раком с помощью комбинации SEA-CD40, пембролизумаба и химиотерапии

[0191] Лечение рака поджелудочной железы оценивается с помощью комбинации химиотерапии, SEA-CD40 и пембролизумаба. Химиотерапию проводят в день 1 для стимуляции высвобождения антигена, а затем вводят SEA-CD40 в день 3. По истечению 1-2 дней после химиотерапии перед введением SEA-CD40 высвобождается антиген из опухолевых клеток в результате химиотерапии. Ожидается, что это повысит способность SEA-CD40 вызывать противоопухолевый иммунный ответ. В частности, SEA-CD40 может стимулировать обновление и представление антигена и, таким образом, ожидается, что оно будет наиболее эффективным при повышенных уровнях циркулирующего антигена. Кроме того, ожидание в течение 1-2 дней после химиотерапии перед введением SEA-CD40 может снизить вероятность синергетической токсичности. Пембролизумаб вводят в день 8.

Назначение пембролизумаба после SEA-CD40 может быть полезным, так как это снижает вероятность связывания пембролизумаба с иммунными клетками с последующим ослаблением иммунитета в результате усиленного клиренса клеток, связанных с пембролизумабом, посредством SEA-CD40. SEA-CD40 вводят с уровнем дозы, который приводит к значительной иммунной стимуляции у людей (например, 10 мкг/кг или 30 мкг/кг).

[0192] Справочная информация: SEA-CD40 представляет собой исследуемое нефукозилированное гуманизированное моноклональное антитело IgG1, направленное против CD40, костимулирующего рецептора, экспрессируемого на антигенпредставляющих клетках (APC). Активация CD40 на APC повышает продукцию цитокинов и костимулирующих рецепторов, усиливая представление опухолевого антигена Т-клеткам. Доклинические данные демонстрируют, что лечение аденокарциномы протоков поджелудочной железы (PDAC) химиотерапией в сочетании с агонистом CD40 может усиливать представление антигена и инициировать противоопухолевый иммунный ответ (Byrne KT and Vonderheide RH, *Cell Rep* 2016;15, 2719-32). В продолжающемся исследовании фазы 1 (SGNS40-001) оценивается SEA-CD40 в качестве монотерапии и в комбинации с пембролизумабом у пациентов с солидными или гематологическими злокачественными новообразованиями на поздних стадиях. Набирается новая когорта для оценки комбинации SEA-CD40, гемцитабина, наб-паклитаксела и пембролизумаба при метастатической PDAC. ABRAXANE® представляет собой торговую марку паклитаксела, содержащего паклитаксел, связанный с альбумином.

[0193] Способы: когорта состоит из пациентов с метастатической PDAC, у которых ранее не проводилась терапия по поводу метастатического заболевания. Пациенты должны быть в возрасте 18 лет и старше, с (нео)адыювантной терапией, завершенной более чем за 4 месяца до включения в исследование, статусом ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) меньше или равным 1, адекватной функцией почек, печени и крови и поддающимся измерению заболеванием по критериям RECIST v 1.1. Стандартная схема гемцитабина и наб-паклитаксела в Дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного цикла вводится с SEA-CD40 внутривенно (в/в) в День 3. Пембролизумаб вводят каждые 42 дня, начиная со Дня 8. Первичной целью является оценка противоопухолевой активности схемы введения, а вторичными целями является оценка безопасности и переносимости SEA-CD40 и пембролизумаба с помощью фармакокинетического анализа. Критерии эффективности подтверждаются в соответствии с RECIST (Критерии оценки ответа при солидных опухолях), ORR (частота объективного ответа/общая частота ответа) на исследователя (первичная), частота контроля заболевания (ответ или стабильное заболевание ~16 недель), продолжительность ответа, PFS (выживаемость без прогрессирования) и OS (объективный ответ/общий ответ). Заболевание оценивают каждые 8 недель с помощью RECIST (Критерии оценки ответа при солидных опухолях) и RECIST на основе иммунного ответа (iRECIST). Лечение продолжается до возникновения неприемлемой токсичности, прогрессирования заболевания согласно iRECIST, отзыва согласия или закрытия

исследования. Оценка дозолимитирующей токсичности первоначально будет проводиться в группах из 6 пациентов, чтобы определить рекомендуемую дозу SEA-CD40 фазы 2 для когорты. В Таблице 3 ниже показаны дни введения химиотерапии, SEA-CD40 и пембролизумаба в течение первых 84 дней (12 недель; 3 цикла 28-дневного цикла для химиотерапии и SEA-CD40; 2 цикла 42-дневного цикла для пембролизумаба). Введение в следующие дни после 84 дня соответствуют той же схеме.

Table 3

	Химиотерапия (гемцитабин и набо- паклитаксел); 28-дневный цикл	SEA-CD40; 28- дневный цикл	Пембролизумаб; 42-дневный цикл
День 1	1-й цикл 1-е введение		
День 3		1-й цикл введение	
День 8	1-й цикл 2-е введение		1-й цикл введение
День 15	1-й цикл 3-е введение		
День 29	2-й цикл 1-е введение		
День 31		2-й цикл введение	
День 36	2-й цикл 2-е введение		
День 43	2-й цикл 3-е введение		
День 50			2-й цикл введение
День 57	3-й цикл 1-е введение		
День 59		3-й цикл введение	
День 64	3-й цикл 2-е введение		
День 71	3-й цикл 3-е введение		

Пример 2. Мышиные модели опухолей с одновременным или поэтапным введением суррогатного антитела SEA-CD40 и/или суррогатного антитела анти-mPD-1.

[0194] Было доказано, что мышиные модели весьма пригодны для оценки эффективности и механизмов лечения рака. Исследование SEA-CD40 на мышиных моделях рака было затруднено, потому что SEA-CD40 не распознает мышиный CD40. Поэтому для оценки активности нефукозилированных антител анти-CD40 были разработаны сингенные мышиные модели опухолей. Функциональными эквивалентами IgG1 человека и FcγRIII/CD16 человека являются мышиный IgG2a и мышиный FcγRIV соответственно, а связывание мышиного IgG2a с мышиным FcγRIV опосредует антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC). См., например, публикации Bruhns, *Blood* 119:5640-5649 (2012) и Nimmeriahn et al., *Immunity* 23:41-51 (2005). Крысиное антитело 1C10 применяли для получения суррогата SEA-CD40. См., например, публикацию Heath et al., *Eur. J. Immunol.* 24:1828-1834 (1994). Вкратце, фрагменты генов VL и VH крысиного моноклонального антитела могут распознавать мышиный CD40. Антитело 1C10 клонировали в рамке 5' в мышиные фрагменты Скарпа и IgG2a CH1-CH2-CH3

соответственно. Экспрессия полученных генов в клетках CHO генерировала химерное антитело 1C10 с крысиными доменами VL и VH и мышьиными доменами легкой и тяжелой цепи изотипа IgG2a (mIgG2a 1C10). mIgG2a 1C10 экспрессировали в присутствии 2-фторфукозы в среде для выращивания клеток CHO с помощью способов, описанных в публикации заявки на патент США № US 2017/0333556 A1, с получением нефукозилированной формы mIgG2a 1C10 (mIgG2a SEA 1C10 или SEA-m1C10).

[0195] Активность одного агента SEA-m1C10 или суррогатного антитела анти-mPD-1 («анти-PD1») и их комбинации исследовали на моделях солидных и сингенных опухолей. Основываясь на механизме SEA-CD40 (например, усиленная активация антигенпредставляющих клеток и последующая индукция усиленного противоопухолевого Т-клеточного ответа), SEA-m1C10 вводили до первоначального лечения суррогатным антителом анти-mPD-1.

[0196] Исходные растворы антител разводили до соответствующей концентрации и затем вводили животным в объеме 100 мкл. Конечные дозы составляли 1 мг/кг для SEA-m1C10 и 1 мг/кг для суррогатного антитела анти-mPD-1. Длину опухоли, ширину опухоли и вес мыши измеряли на протяжении всего экспериментального периода и рассчитывали объем опухоли. Эвтаназию проводили, когда объем опухоли у мыши достигал 1000 мм³.

Модель рака толстой кишки CT26

[0197] Комбинаторную активность антитела SEA-m1C10 и суррогатного антитела анти-mPD-1 тестировали на модели рака толстой кишки CT26, который отвечает на лечение суррогатным антителом анти-mPD-1. Мышам BALB/c имплантировали сингенную клеточную линию опухоли CT26 подкожно в бок в день 0. Когда средний размер опухоли (измеряемый по формуле: объем (мм³) = 0,5 * длина * ширина², где длина - это больший размер, а ширина - меньший размер) достигал 100 мм³, мышей случайным образом определяли в контрольную группу G1 и три группы лечения G2-G4 (5 мышей в группе).

[0198] В одном эксперименте мышам группы лечения внутрибрюшинно вводили либо один агент (суррогатное антитело анти-mPD-1 (G2) или SEA-m1C10 (G3)), либо их комбинацию (G4) в тот же день. Частота введения составляла один раз в три дня, всего три введения. Мыши контрольной группы (G1) лечение не получали. Медианный объем опухоли у мышей приведен на **Фиг. 1А**.

[0199] В альтернативном варианте мышам в группах лечения G3 и G4 вводили 3 дозы SEA-m1C10 с интервалом в три дня (например, в период со дня 9 по день 15). В последний день лечения SEA-m1C10 (например, в день 15) первую дозу суррогатного антитела анти-mPD-1 вводили мышам групп G2 и G4, которые затем получали 2 дополнительные дозы с интервалом в три дня (например, в период со дня 15 по день 21). Мыши контрольной группы (G1) лечение не получали. Медианный объем опухоли у мышей приведен на **Фиг. 1В**.

[0200] Результаты продемонстрировали, что SEA-m1C10 не проявляет никакого противоопухолевого действия при введении отдельно. Как продемонстрировано на **Фиг. 1А**, при одновременном введении SEA-m1C10 и суррогатного антитела анти-mPD-1 не

наблюдалось никакой комбинаторной активности или даже антагонистической активности. Однако противоопухолевая активность усиливалась, когда SEA-m1C10 вводили поэтапно с суррогатным антителом анти-mPD-1 (**Фиг. 1В**). Приведенные выше результаты демонстрируют, что время введения этих агентов важно для достижения терапевтического эффекта. Кроме того, эти результаты согласуются с предполагаемым механизмом действия SEA-CD40.

Модель диссеминированной лимфомы A20

[0201] Комбинаторную активность антитела SEA-m1C10 и суррогатного антитела анти-mPD-1 также тестировали на модели лимфомы A20. Мышам BALB/с внутривенно вводили клетки A20, что приводило к развитию диссеминированной лимфомы примерно через 2-4 недели. Модель диссеминированной лимфомы A20 инициировали у иммунокомпетентных самок мышей BALB/с путем внутривенной инъекции 1×10^6 клеток A20 на мышь (в/в). Мышей случайным образом определяли в контрольную группу G1 и три группы лечения G2-G4 (6 мышей в группе).

[0202] В одном эксперименте мышам из группы лечения вводили антитела в дозе 3 мг/кг внутривенно (в/бр) по схеме q3d $\times$ 3 (один раз каждые три дня, всего три введения), начиная со дня 7 после инокуляции опухолевых клеток. Мыши контрольной группы лечение не получали. У всех мышей наблюдали за потерей веса и симптомами опухолевой нагрузки, например, асцитом в брюшине. Опухолевую нагрузку дополнительно верифицировали после умерщвления мышей. На **Фиг. 2А** продемонстрированы кривые выживания мышей контрольной группы (G1), мышей, которых лечили суррогатным антителом анти-mPD-1 (G2), SEA-m1C10 (G3) и их комбинацией в одни и те же дни (G4).

[0203] В другом эксперименте модель лимфомы A20 создавали с помощью подкожной методики. В частности, опухолям позволяли вырасти до около 100 мм³ и мышам в группах лечения G3 и G4 вводили 3 дозы SEA-m1C10 с разницей в три дня (например, в период со дня 4 по день 10). В последний день лечения SEA-m1C10, первую дозу суррогатного антитела анти-mPD1 вводили (например, в день 10) мышам групп G2 и G4, которые затем получили 2 дополнительные дозы с разницей в три дня (например, в период со дня 10 по день 16). Мыши контрольной группы (G1) лечение не получали. Средний объем опухоли у мышей приведен на **Фиг. 2В**.

[0204] Как продемонстрировано на **Фиг. 2А**, у мышей, получавших SEA-m1C10 (G3), значительно увеличилась выживаемость животных по сравнению с мышами контрольной группы (G1). Кроме того, одновременное введение SEA-m1C10 и суррогатного антитела анти-mPD1 в модели диссеминированной лимфомы A20 не проявляло какой-либо противоопухолевой активности и даже оказывало антагонистическое действие при совместном введении. Напротив, как продемонстрировано на **Фиг. 2В**, противоопухолевая активность усиливалась, когда SEA-m1C10 вводили поэтапно с суррогатным антителом анти-mPD-1. Например, в то время как суррогатное антитело анти-mPD-1 (G2) и SEA-m1C10 (G3) замедляли прогрессирование опухоли, у 4/6 и 5/6 животных достигался полный ответ (CR), соответственно, комбинаторная активность этих двух

агентов была поразительной, приводя к полной регрессии опухоли у 6/6 животных (G4).

Модель почечно-клеточной карциномы RENCA

[0205] Комбинаторную активность антитела SEA-m1C10 с суррогатным антителом анти-mPD1 также тестировали на подкожной сингенной модели почечных клеток RENCA. Мышам BALB/c имплантировали сингенную клеточную линию опухоли RENCA подкожно в бок в день 0. Когда средний размер опухоли (измеряемый по формуле: $\text{объем (мм}^3\text{)} = 0,5 * \text{длина} * \text{ширина}^2$, где длина - это больший размер, а ширина - меньший размер) достигал 100 мм^3 , мышей случайным образом определяли в контрольную группу G1 и три группы лечения G2-G4 (5 мышей в группе).

[0206] В одном эксперименте мышам группы лечения внутрибрюшинно вводили либо один агент (суррогатное антитело анти-mPD-1 (G2) или SEA-m1C10 (G3)), либо их комбинацию (G4) в тот же день. Частота введения составляла один раз в три дня, всего три введения. Мыши контрольной группы (G1) лечение не получали. Средний объем опухоли у мышей приведен на **Фиг. 3А**.

[0207] В альтернативном варианте мышам в группах лечения G3 и G4 вводили 3 дозы SEA-m1C10 с интервалом в три дня (например, в период со дня 5 по день 11). В последний день лечения SEA-m1C10 (например, в день 11) первую дозу суррогатного антитела анти-mPD-1 вводили мышам групп G2 и G4, которые затем получали 2 дополнительные дозы с интервалом в три дня (например, в период со дня 9 по день 15). Мыши контрольной группы (G1) лечение не получали. Средний объем опухоли у мышей приведен на **Фиг. 3В**.

[0208] Как продемонстрировано на **Фиг. 3А**, результаты показали, что одновременное введение SEA-m1C10 и суррогатного антитела анти-mPD-1 не проявляло какой-либо противоопухолевой активности и даже проявляло антагонистический эффект при совместном введении. Как продемонстрировано на **Фиг. 3В**, в то время как SEA-m1C10 и суррогатное антитело анти-mPD-1 замедляли прогрессирование опухоли, комбинированная активность этих двух агентов, вводимых в поэтапном порядке, улучшала противоопухолевую активность и приводила к задержке роста опухоли.

ДРУГИЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[0209] Следует понимать, что хотя настоящее изобретение было описано в связи с его подробным описанием, вышеприведенное описание предназначено для иллюстрации, а не для ограничения объема настоящего изобретения, который определяется объемом прилагаемой формулы изобретения. Другие аспекты, преимущества и модификации включены в объем последующей формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака поджелудочной железы, включающий введение пациенту с раком поджелудочной железы:

(i) химиотерапии в день 1, день 8 и день 15 каждого 28-дневного цикла,
(ii) композиции, содержащей антитело анти-CD40, в день 3 каждого 28-дневного цикла, и

(iii) антитела анти-PD-1 в день 8 каждого 42-дневного цикла;

причем антитело анти-CD40 содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислоты 1-113 из SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислоты 1-113 из SEQ ID NO: 2, и константную область человека; при этом указанная константная область человека имеет связанную с N-гликозидом сахарную цепь на остатке N297 в соответствии с индексом EU; и при этом менее 20% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы; и/или 2) представляет собой вариант SEA-CD40; а также

при этом антитело анти-PD-1 содержит легкую цепь, содержащую CDR из SEQ ID NO: 3-5, и тяжелую цепь, содержащую CDR из SEQ ID NO: 8-10.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что менее 10% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы.

3. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что менее 5% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы.

4. Способ по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что менее 3% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы.

5. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что менее 2% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы.

6. Способ по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

7. Способ по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 представляет собой SEA-CD40.

8. Способ по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 представляет собой вариант SEA-CD40.

9. Способ по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что легкая цепь антитела анти-PD-1 имеет переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, а тяжелая цепь анти-PD-1 имеет переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11.

10. Способ по любому из пп. 1-9, отличающийся тем, что легкая цепь антитела анти-PD-1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, а тяжелая цепь антитела анти-PD-1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12.

11. Способ по любому из пп. 1-10, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 представляет собой пембролизумаб.

12. Способ по любому из пп. 1-9, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 представляет собой вариант пембролизумаба.

13. Способ по любому из пп. 1-12, отличающийся тем, что химиотерапия содержит гемцитабин и/или паклитаксел.

14. Способ по п. 13, отличающийся тем, что паклитаксел представляет собой наб-паклитаксел.

15. Способ по любому из пп. 1-14, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 вводят в дозе 10 мкг/кг.

16. Способ по любому из пп. 1-14, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 вводят в дозе 30 мкг/кг.

17. Способ по любому из пп. 1-16, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 вводят в дозе 400 мг.

18. Способ по любому из пп. 1-17, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 вводят внутривенно.

19. Способ по любому из пп. 1-18, отличающийся тем, что рак поджелудочной железы представляет собой аденокарциному протоков поджелудочной железы (PDAC).

20. Способ по любому из пп. 1-19, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 вводят внутривенно.

21. Способ по любому из пп. 1-19, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 вводят подкожно.

22. Способ лечения рака, включающий:

(i) введение химиотерапии пациенту, страдающему раком, в цикле каждые 4 недели,

(ii) введение пациенту композиции, содержащей антитело анти-CD40, в цикле каждые 4 недели, и

(iii) введение пациенту антитела анти-PD-1 в цикле каждые 3 недели или 6 недель,

при этом указанную химиотерапию вводят в день 1, день 8 и день 15 каждого 4-недельного цикла, антитело анти-CD40 вводят в день 3 каждого 4-недельного цикла, а антитело анти-PD-1 вводят в день 8 каждого 3-недельного цикла или 6-недельного цикла;

при этом антитело анти-CD40 содержит 1) переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислоты 1-113 из SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислоты 1-113 из SEQ ID NO: 2, и константную область человека; при этом указанная константная область человека имеет связанную с N-гликозидом сахарную цепь на остатке N297 в соответствии с индексом EU; и при этом менее 20% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы; и/или 2) представляет собой вариант SEA-CD40; а также

при этом антитело анти-PD-1 содержит легкую цепь, содержащую CDR из SEQ ID NO: 3-5, и тяжелую цепь, содержащую CDR из SEQ ID NO: 8-10.

23. Способ по п. 22, отличающийся тем, что менее 10% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы.

24. Способ по п. 22 или 23, отличающийся тем, что менее 5% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы.

25. Способ по любому из пп. 22-24, отличающийся тем, что менее 3% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы.

26. Способ по любому из пп. 22-25, отличающийся тем, что менее 2% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы.

27. Способ по любому из пп. 22-26, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

28. Способ по любому из пп. 22-27, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 представляет собой SEA-CD40.

29. Способ по любому из пп. 22-26, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 представляет собой вариант SEA-CD40.

30. Способ по любому из пп. 22-29, отличающийся тем, что легкая цепь антитела анти-PD-1 имеет переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, а тяжелая цепь анти-PD-1 имеет переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11.

31. Способ по любому из пп. 22-30, отличающийся тем, что легкая цепь антитела анти-PD-1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, а тяжелая цепь антитела анти-PD-1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12.

32. Способ по любому из пп. 22-31, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 представляет собой пембролизумаб.

33. Способ по любому из пп. 22-30, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 представляет собой вариант пембролизумаба.

34. Способ по любому из пп. 22-33, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 вводят в цикле каждые 3 недели, и антитело анти-PD-1 вводят в день 8 каждого 3-недельного цикла в дозе 200 мг.

35. Способ по любому из пп. 22-33, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 вводят в цикле каждые 6 недель, и антитело анти-PD-1 вводят в день 8 каждого 6-недельного цикла в дозе 400 мг.

36. Способ по любому из пп. 22-35, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 вводят внутривенно.

37. Способ лечения рака, включающий:

(i) введение антитела анти-CD40 пациенту, страдающему раком, в цикле каждую неделю, каждые 2 недели, каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель или каждые 8 недель, причем цикл включает первый цикл введения антитела анти-CD40,

(ii) введение пациенту антитела анти-PD-1 в цикле каждые 3 недели или каждые 6 недель, при этом цикл включает первый цикл введения антитела анти-PD-1,

при этом первое введение антитела анти-CD40 в первом цикле введения антитела анти-CD40 осуществляют за 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней или 7 дней до первого введения антитела анти-PD-1 в первом цикле введения антитела анти-PD-1;

при этом антитело анти-CD40: 1) содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислоты 1-113 из SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислоты 1-113 из SEQ ID NO: 2, и константную область человека; при этом указанная константная область человека имеет связанную с N-гликозидом сахарную цепь на остатке N297 в соответствии с индексом EU; и при этом менее 20% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы; и/или 2) представляет собой вариант SEA-CD40; а также

при этом антитело анти-PD-1 содержит легкую цепь, содержащую CDR из SEQ ID NO: 3-5, и тяжелую цепь, содержащую CDR из SEQ ID NO: 8-10.

38. Способ по п. 37, отличающийся тем, что менее 10% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы.

39. Способ по п. 37 или 38, отличающийся тем, что менее 5% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы.

40. Способ по любому из пп. 37-39, отличающийся тем, что менее 3% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы.

41. Способ по любому из пп. 37-40, отличающийся тем, что менее 2% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы.

42. Способ по любому из пп. 37-41, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

43. Способ по любому из пп. 37-42, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 представляет собой SEA-CD40.

44. Способ по любому из пп. 37-41, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 представляет собой вариант SEA-CD40.

45. Способ по любому из пп. 37-44, отличающийся тем, что легкая цепь антитела анти-PD-1 имеет переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, а тяжелая цепь анти-PD-1 имеет переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11.

46. Способ по любому из пп. 37-45, отличающийся тем, что легкая цепь антитела анти-PD-1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, причем тяжелая цепь антитела анти-PD-1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12.

47. Способ по любому из пп. 37-46, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 представляет собой пембролизумаб.

48. Способ по любому из пп. 37-45, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 представляет собой вариант пембролизумаба.

49. Способ по любому из пп. 37-48, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 вводят в цикле каждые 2 недели, каждые 4 недели, каждые 6 недель или каждые 8 недель.

50. Способ по любому из пп. 37-49, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 вводят в цикле каждые 4 недели или каждые 8 недель.

51. Способ по любому из пп. 37-50, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 вводят в цикле каждые 4 недели.

52. Способ по любому из пп. 37-51, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 вводят в цикле каждые 3 недели в дозе 200 мг.

53. Способ по любому из пп. 37-51, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 вводят в цикле каждые 6 недель в дозе 400 мг.

54. Способ по любому из пп. 37-53, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 вводят внутривенно.

55. Способ по любому из пп. 37-54, отличающийся тем, что первое введение антитела анти-CD40 в первом цикле осуществляется за 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней или 6 дней до первого введения антитела анти-PD-1 в первом цикле.

56. Способ по любому из пп. 37-55, отличающийся тем, что первое введение антитела анти-CD40 в первом цикле осуществляется за 3 дня, 4 дня или 5 дней до первого введения антитела анти-PD-1 в первом цикле.

57. Способ по любому из пп. 37-56, отличающийся тем, что первое введение антитела анти-CD40 в первом цикле осуществляется за 5 дней до первого введения антитела анти-PD-1 в первом цикле.

58. Способ по любому из пп. 37-48, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 и антитело анти-PD-1 вводят в их первых циклах в соответствии со схемой лечения, выбранной из группы, состоящей из:

антитело анти-CD40 впервые вводят в день 1, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 2.

антитело анти-CD40 впервые вводят в день 1, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 3.

антитело анти-CD40 впервые вводят в день 1, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 4.

антитело анти-CD40 впервые вводят в день 1, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 5.

антитело анти-CD40 впервые вводят в день 1, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 6.

антитело анти-CD40 впервые вводят в день 1, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 7.

антитело анти-CD40 впервые вводят в день 1, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 8.

антитело анти-CD40 впервые вводят в день 2, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 3.

антитело анти-CD40 впервые вводят в день 2, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 4.

60. Способ по п. 58, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 впервые вводят в день 1, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 5.

61. Способ по п. 58, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 впервые вводят в день 1, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 8.

62. Способ по п. 58, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 впервые вводят в день 3, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 5.

63. Способ по п. 58, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 впервые вводят в день 3, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 8.

64. Способ по п. 58, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 впервые вводят в день 5, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 8.

65. Способ лечения рака, включающий:

(i) введение химиотерапии пациенту, страдающему раком, в цикле каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 5 недель или каждые 6 недель,

(ii) введение антитела анти-CD40 пациенту, страдающему раком, в цикле каждую неделю, каждые 2 недели, каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель или каждые 8 недель, и

(iii) введение пациенту антитела анти-PD-1 в цикле каждые 3 недели или каждые 6 недель,

причем первое введение химиотерапии в первом цикле введения химиотерапии осуществляют за 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней или 7 дней до первого введения антитела анти-CD40 в первом цикле введения антитела анти-CD40,

при этом первое введение антитела анти-CD40 в первом цикле введения антитела анти-CD40 осуществляют за 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней или 7 дней до первого введения антитела анти-PD-1 в первом цикле введения антитела анти-PD-1;

при этом антитело анти-CD40 содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислоты 1-113 из SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислоты 1-113 из SEQ ID NO: 2, и константную область человека; при этом указанная константная область человека имеет связанную с N-гликозидом сахарную цепь на остатке N297 в соответствии с индексом EU; и при этом менее 20% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы; и/или 2) представляет собой вариант SEA-CD40; а также

при этом антитело анти-PD-1 содержит легкую цепь, содержащую CDR из SEQ ID NO: 3-5, и тяжелую цепь, содержащую CDR из SEQ ID NO: 8-10.

66. Способ по п. 65, отличающийся тем, что менее 10% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы.

67. Способ по п. 65 или 66, отличающийся тем, что менее 5% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы.

68. Способ по любому из пп. 65-67, отличающийся тем, что менее 3% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы.

69. Способ по любому из пп. 65-68, отличающийся тем, что менее 2% связанных с N-гликозидом сахарных цепей в композиции содержат остаток фукозы.

70. Способ по любому из пп. 65-69, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

71. Способ по любому из пп. 65-70, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 представляет собой SEA-CD40.

72. Способ по любому из пп. 65-69, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 представляет собой вариант SEA-CD40.

73. Способ по любому из пп. 65-72, отличающийся тем, что легкая цепь антитела анти-PD-1 имеет вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, а тяжелая цепь анти-PD-1 имеет вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11.

74. Способ по любому из пп. 65-73, отличающийся тем, что легкая цепь антитела анти-PD-1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, а тяжелая цепь антитела анти-PD-1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12.

75. Способ по любому из пп. 65-74, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 представляет собой пембролизумаб.

76. Способ по любому из пп. 65-73, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 представляет собой вариант пембролизумаба.

77. Способ по любому из пп. 65-76, отличающийся тем, что химиотерапия включает один или оба из следующих агентов: гемцитабин и паклитаксел.

78. Способ по любому из пп. 65-77, отличающийся тем, что химиотерапия включает оба из следующих агентов: гемцитабин и паклитаксел.

79. Способ по любому из пп. 65-78, отличающийся тем, что химиотерапия включает гемцитабин и паклитаксел.

80. Способ по любому из пп. 77-79, отличающийся тем, что паклитаксел представляет собой наб-паклитаксел.

81. Способ по любому из пп. 77-79, отличающийся тем, что паклитаксел представляет собой паклитаксел, связанный с альбумином.

82. Способ по любому из пп. 65-81, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 вводят в цикле каждые 2 недели, каждые 4 недели, каждые 6 недель или каждые 8 недель.

83. Способ по любому из пп. 65-82, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 вводят в цикле каждые 4 недели или каждые 8 недель.

84. Способ по любому из пп. 65-83, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 вводят в цикле каждые 4 недели.

85. Способ по любому из пп. 65-84, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 вводят в цикле каждые 3 недель в дозе 200 мг.

86. Способ по любому из пп. 65-85, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 вводят в цикле каждые 6 недель в дозе 400 мг.

87. Способ по любому из пп. 65-86, отличающийся тем, что антитело анти-PD-1 вводят внутривенно.

88. Способ по любому из пп. 65-87, отличающийся тем, что первое введение химиотерапии в первом цикле осуществляется за 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней или 6 дней до первого введения антитела анти-CD40 в первом цикле, и

при этом первое введение антитела анти-CD40 в первом цикле осуществляется за 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней или 6 дней до первого введения антитела анти-PD-1 в первом цикле.

89. Способ по любому из пп. 65-88, отличающийся тем, что первое введение химиотерапии в первом цикле осуществляется за 2 дня, 3 дня или 4 дня до первого введения антитела анти-CD40 в первом цикле, и

причем первое введение антитела анти-CD40 в первом цикле осуществляется за 3 дня, 4 дня или 5 дней до первого введения антитела анти-PD-1 в первом цикле.

90. Способ по любому из пп. 33-45, отличающийся тем, что первое введение химиотерапии в первом цикле осуществляется за 2 дня до первого введения антитела анти-CD40 в первом цикле, и

причем первое введение антитела анти-CD40 в первом цикле осуществляется за 5 дней до первого введения антитела анти-PD-1 в первом цикле.

91. Способ по любому из пп. 65-87, отличающийся тем, что химиотерапия, антитело анти-CD40 и антитело анти-PD-1 вводят в их первых циклах в соответствии со схемой лечения, выбранной из группы, состоящей из:

химиотерапию впервые вводят в день 1, антитело анти-CD40 впервые вводят в день 2, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 3;

химиотерапию впервые вводят в день 1, антитело анти-CD40 впервые вводят в день 2, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 4;

химиотерапию впервые вводят в день 1, антитело анти-CD40 впервые вводят в день 2, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 5;

химиотерапию впервые вводят в день 1, антитело анти-CD40 впервые вводят в день 2, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 6;

химиотерапию впервые вводят в день 1, антитело анти-CD40 впервые вводят в день 2, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 7;

химиотерапию впервые вводят в день 1, антитело анти-CD40 впервые вводят в день 2, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 8;

химиотерапию впервые вводят в день 1, антитело анти-CD40 впервые вводят в день 2, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 9;

химиотерапию впервые вводят в день 1, антитело анти-CD40 впервые вводят в день 2, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 10;

химиотерапию впервые вводят в день 1, антитело анти-CD40 впервые вводят в день 2, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 11;

химиотерапию впервые вводят в день 1, антитело анти-CD40 впервые вводят в день 2, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 12;

92. Способ по п. 91, отличающийся тем, что химиотерапию впервые вводят в день 1, антитело анти-CD40 впервые вводят в день 3, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 8;

93. Способ по п. 91, отличающийся тем, что химиотерапию впервые вводят в день 1, антитело анти-CD40 впервые вводят в день 5, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 8;

94. Способ по п. 91, отличающийся тем, что химиотерапию впервые вводят в день 1, антитело анти-CD40 впервые вводят в день 7, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 8;

95. Способ по п. 91, отличающийся тем, что химиотерапию впервые вводят в день 1, антитело анти-CD40 впервые вводят в день 7, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 15;

96. Способ по п. 91, отличающийся тем, что химиотерапию впервые вводят в день 1, антитело анти-CD40 впервые вводят в день 8, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 10, день 11, день 12 или день 15.

97. Способ по п. 91, отличающийся тем, что химиотерапию впервые вводят в день 1, антитело анти-CD40 впервые вводят в день 8, а антитело анти-PD-1 впервые вводят в день 15;

98. Способ по любому из пп. 65-97, отличающийся тем, что химиотерапию вводят в цикле каждые 4 недели.

99. Способ по любому из пп. 65-97, отличающийся тем, что химиотерапию вводят в день 1, день 5 и день 8 каждого цикла.

100. Способ по любому из пп. 65-99, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 вводят в цикле каждые 4 недели.

101. Способ по любому из пп. 22-100, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 вводят в дозе около 3 мкг/кг, около 10 мкг/кг, около 30 мкг/кг, около 45 мкг/кг или около 60 мкг/кг массы тела пациента.

102. Способ по п. 101, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 вводят в дозе около 10 мкг/кг массы тела пациента.

103. Способ по п. 101, отличающийся тем, что антитело анти-CD40 вводят в дозе около 30 мкг/кг массы тела пациента.

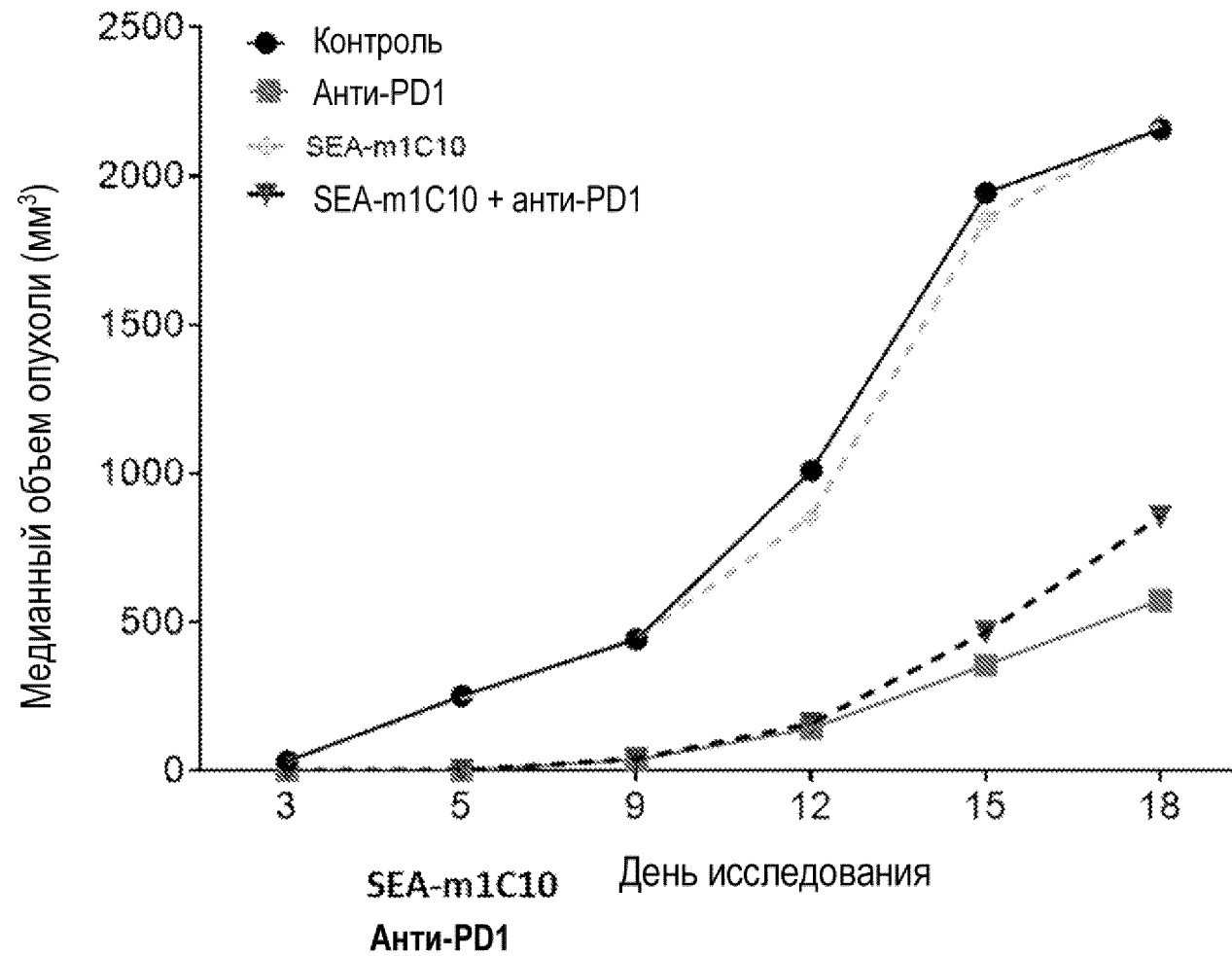
104. Способ по любому из пп. 22-103, отличающийся тем, что рак представляет собой меланому; рак молочной железы, метастатический рак молочной железы; рак легкого, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC) или рак поджелудочной железы.

105. Способ по любому из пп. 22-104, отличающийся тем, что рак представляет собой рак поджелудочной железы.

106. Способ по любому из пп. 22-105, отличающийся тем, что рак представляет собой аденокарциному протоков поджелудочной железы (PDAC).

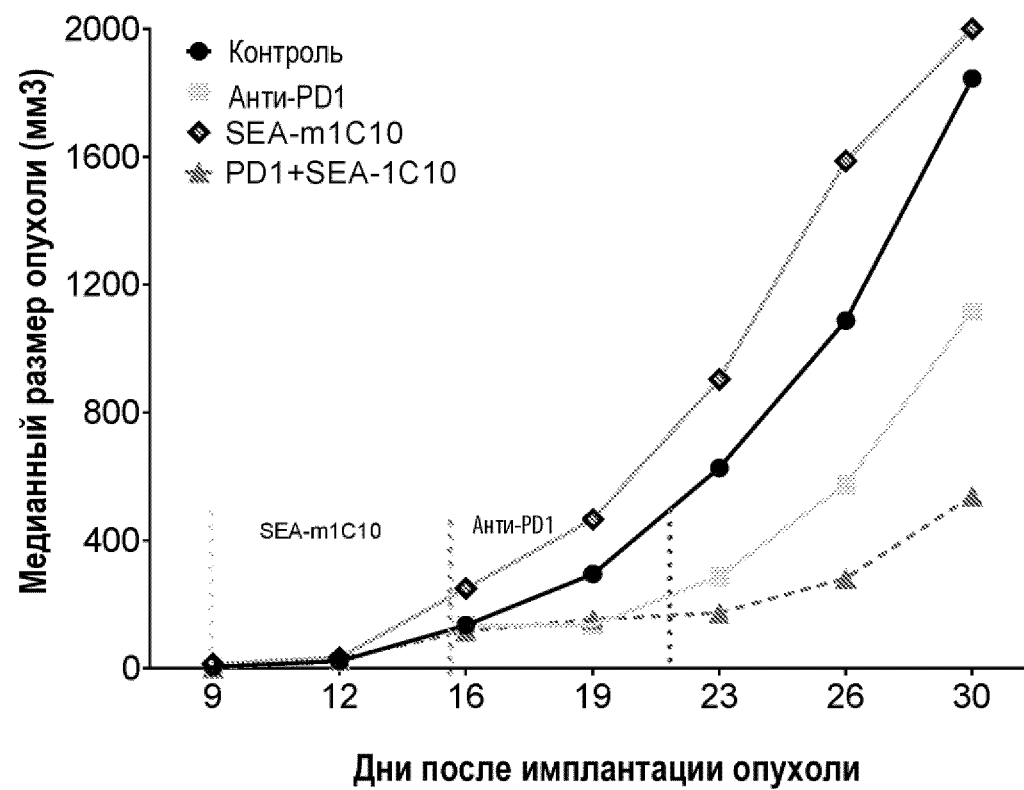
107. Способ по любому из пп. 22-106, отличающийся тем, что рак представляет собой метастатическую аденокарциному протоков поджелудочной железы.

CT26 Модель с одновременным введением дозы



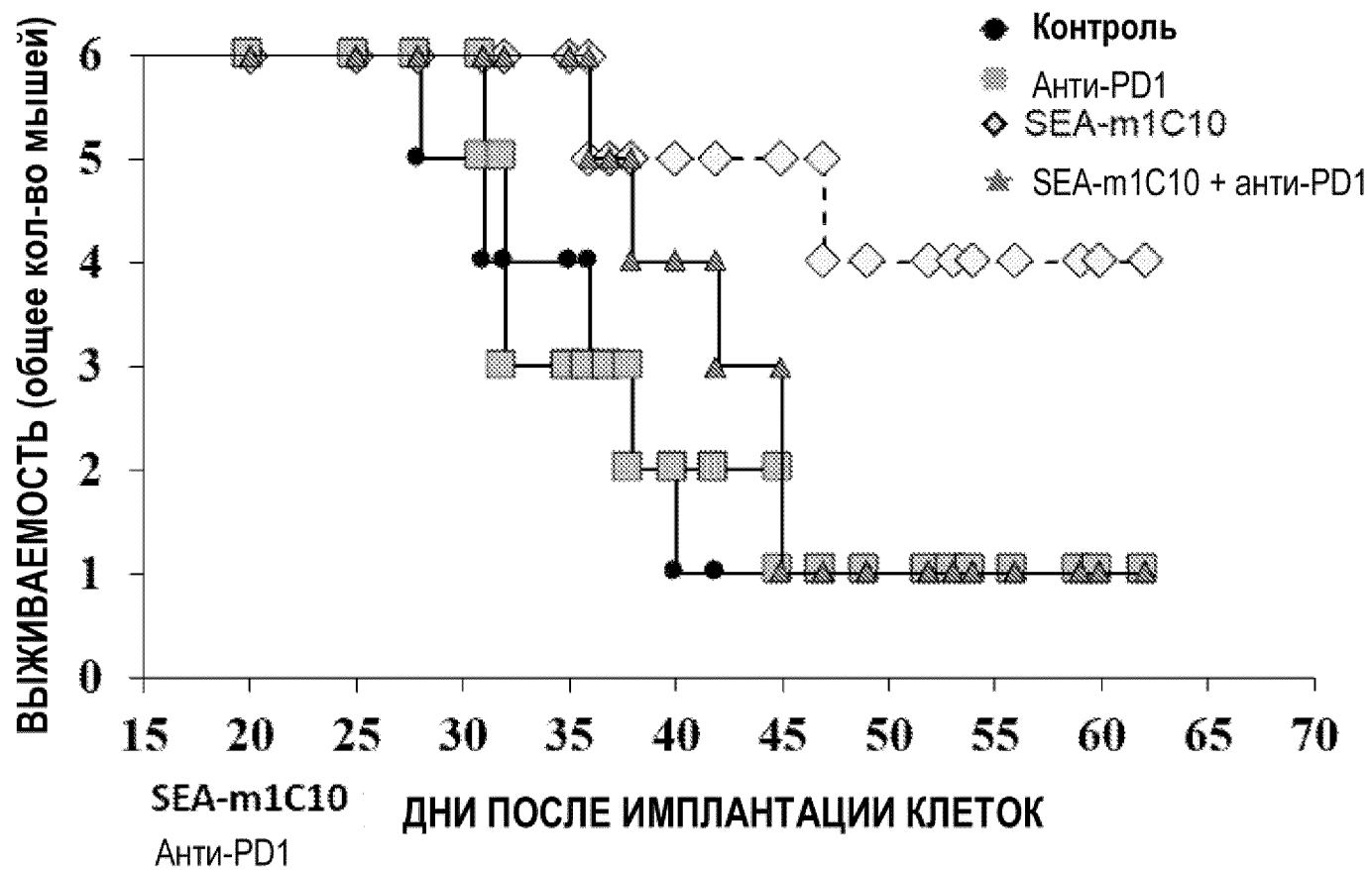
Фиг. 1А

СТ26 Модель со ступенчатым введением дозы



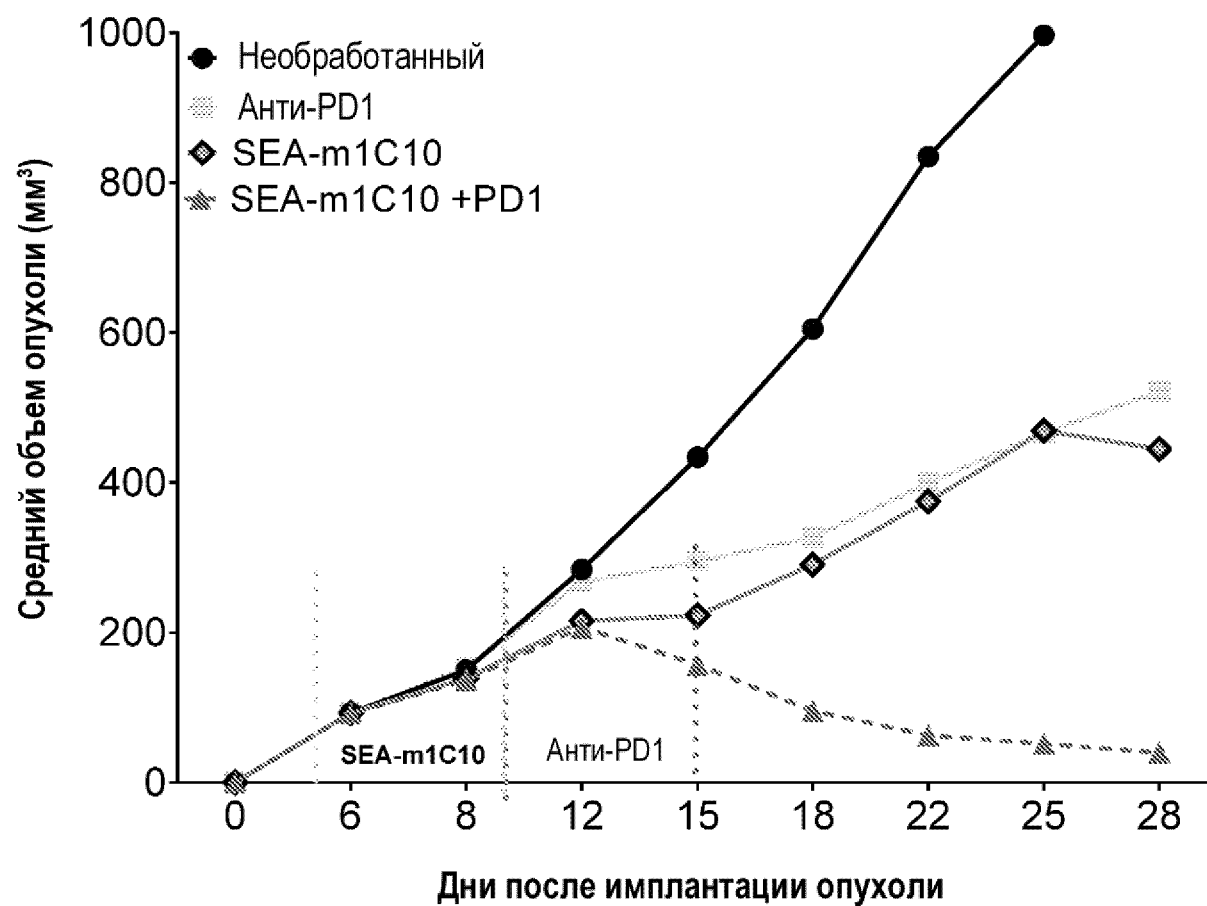
Фиг. 1В

A20 Рассеянное одновременное введение дозы



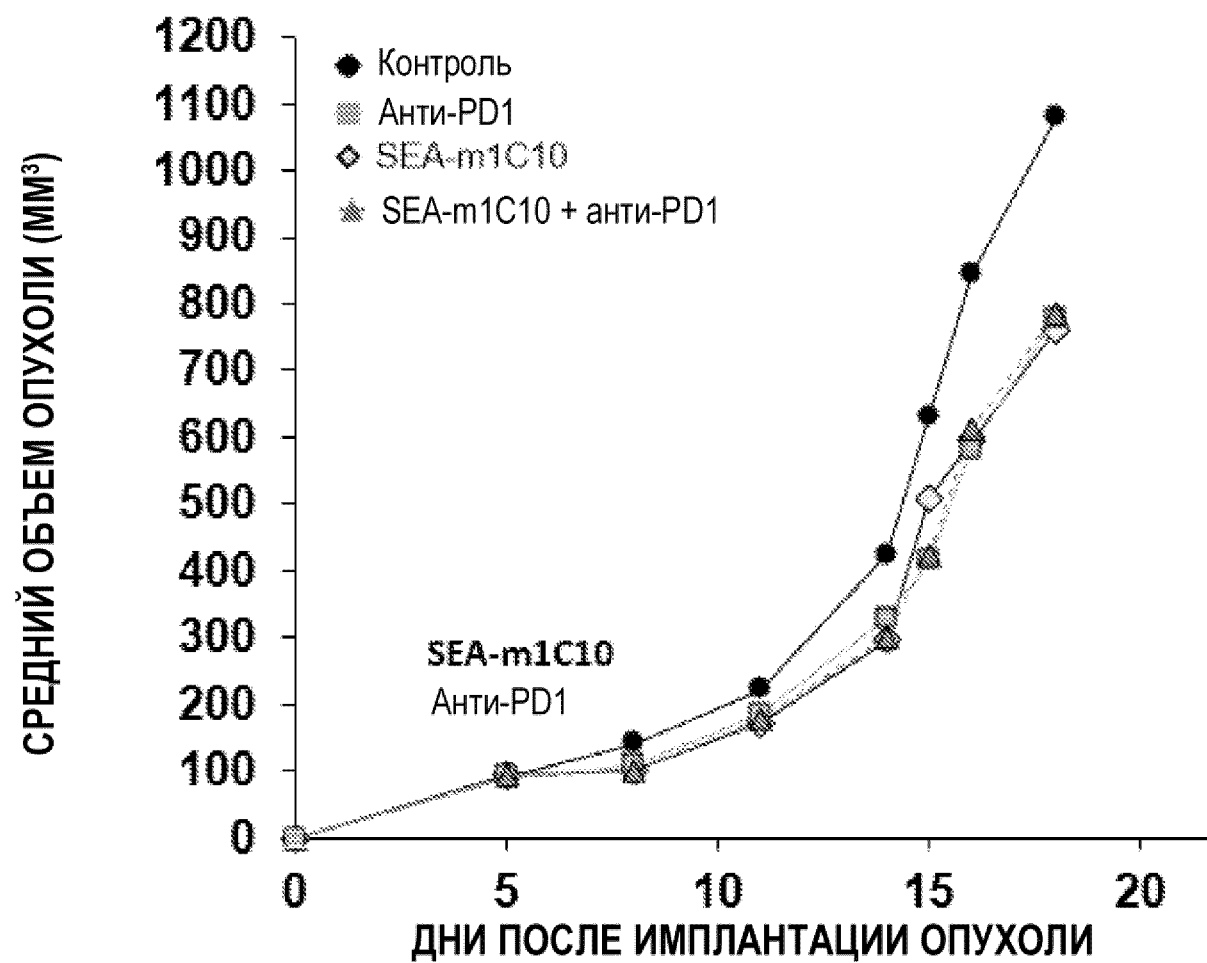
Фиг. 2А

A20 Модель подкожной лимфомы у мышей Balb/c



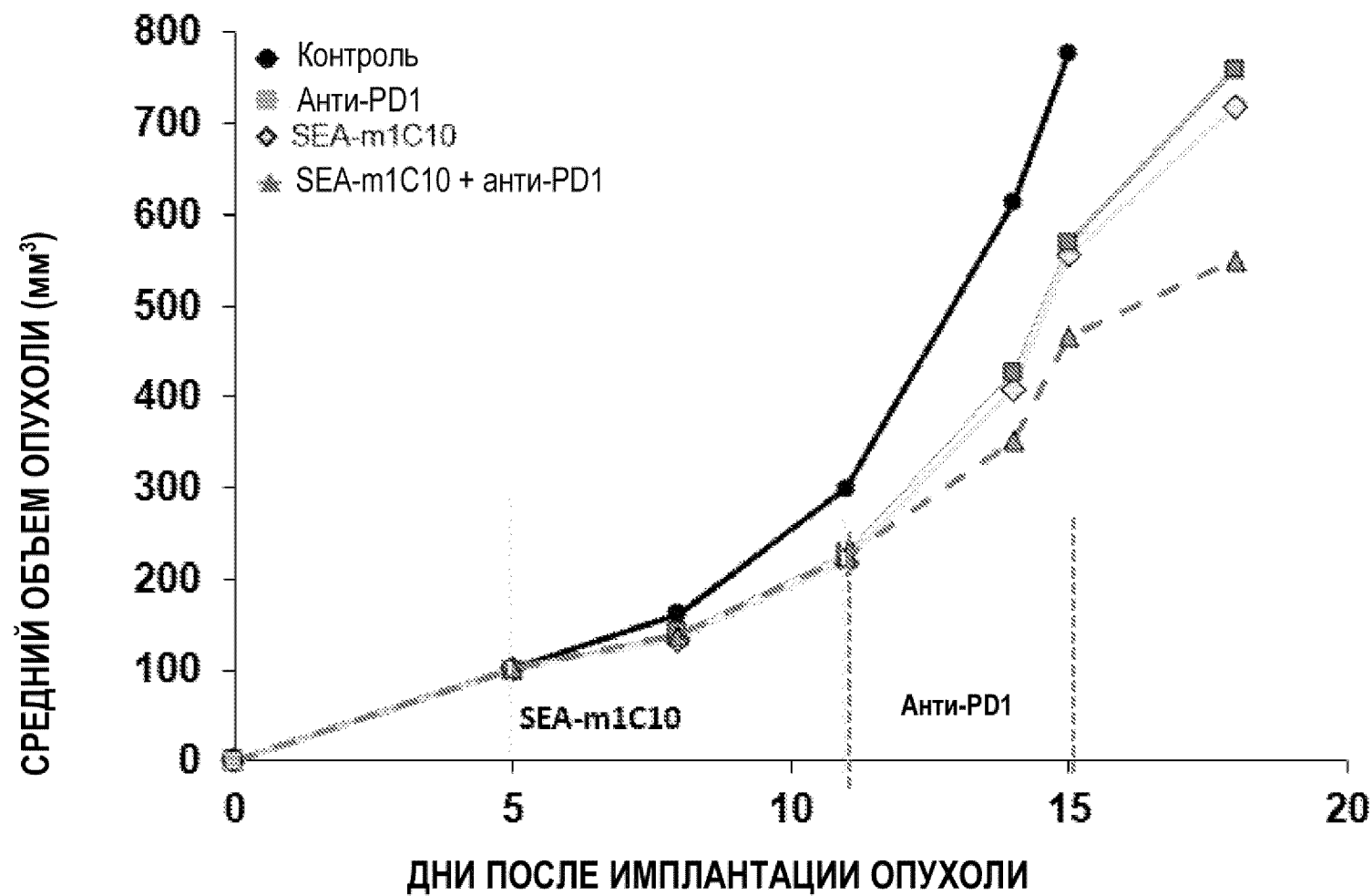
Фиг. 2В

RENCA Одновременное введение дозы



Фиг. 3А

RENCA Ступенчатое введение дозы



Фиг. 3В

Фиг. 4

SEA-CD40 тяжелая цепь (SEQ ID NO: 1)

<u>EVQLVESGGG</u>	<u>LVQPGGSLRL</u>	<u>SCAASGYSFT</u>	<u>GYIHWVRQA</u>	<u>PGKGLEWVAR</u>
<u>VIPNAGGTSY</u>	<u>NQKFKGRFTL</u>	<u>SVDNSKNTAY</u>	<u>LQMNSLRAED</u>	<u>TAVYYCAREG</u>
<u>IYWWGQGTLV</u>	<u>TVSSASTKGP</u>	SVFPLAPSSK	STSGGTAALG	CLVKDYFPEP
VTVSWNSGAL	TSGVHTFPAV	LQSSGLYSLS	SVVTVPSSSL	GTQTYICNVN
HKPSNTKVDK	KVEPKSCDKT	HTCPPCPAPE	LLGGPSVFLF	PPKPKDTLMI
SRTPEVTCVV	VDVSHEDPEV	KFNWYVDGVE	VHNAKTKPRE	EQYNSTYRVV
SVLTVLHQDW	LNGKEYKCKV	SNKALPAPIE	KTISKAKGQP	REPQVYTLPP
SREEMTKNQV	SLTCLVKGFY	PSDIAVEWES	NGQPENNYKT	TPPVLDSDGS
FFLYSKLTVD	KSRWQQGNVF	SCSVMHEALH	NHYTQKSLSL	SPGK

SEQ-CD40 легкая цепь (SEQ ID NO: 2)

<u>DIQMTQSPSS</u>	<u>LSASVGDRVT</u>	<u>ITCRSSQSLV</u>	<u>HSNGNTFLHW</u>	<u>YQQKPGKAPK</u>
<u>LLIYTVSNRF</u>	<u>SGVPSRFSGS</u>	<u>GSGTDFTLTI</u>	<u>SSLQPEDFAT</u>	<u>YFCSQTTHVP</u>
<u>WTFGQGTKVE</u>	<u>IKRTVAAPSV</u>	FIFPPSDEQL	KSGTASVVCL	LNNFYPREAK
VQWKVDNALQ	SGNSQESVTE	QDSKDYSTYS	SSTLTLSKAD	YEKHKVYACE
VTHQGLSSPV	TKSFNRGEC			