

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202390007** (13) **A2**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.02.28

(22) Дата подачи заявки
2015.01.26

(51) Int. Cl. *C07K 16/28* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

(54) **АНТИТЕЛА К LAG-3 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ**

(31) **61/932,589**

(32) **2014.01.28**

(33) **US**

(62) **201691361; 2015.01.26**

(71) Заявитель:
**БРИСТОЛ-МАЕРС СКВИББ
КОМПАНИ (US)**

(72) Изобретатель:

**Гутьеррес Андрес А., Гроссо Джозеф,
Хилл Кристофер Марк, Селби Марк,
Льюис Кэтрин Е. (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Предусмотрены способы клинического лечения гематологических злокачественных опухолей, таких как рецидивирующий или рефрактерный хронический лимфоцитарный лейкоз или лимфома, с использованием антитела к LAG-3. Конкретные злокачественные опухоли включают в себя, например, хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), лимфому Ходжкина (HL) или неходжкинскую лимфому (NHL).

A2

202390007

202390007

A2

АНТИТЕЛА К LAG-3 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

ОПИСАНИЕ

Ссылка на родственные заявки

По настоящей заявке испрашивается приоритет и преимущество в соответствии с предварительной заявкой на патент США № 61/932589, поданной 28 января 2014 г., содержание которой полностью включено в настоящий документ.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

Ген-3 активации лимфоцитов (LAG-3; CD223) представляет собой трансмембранный белок типа I, который экспрессируется на клеточной поверхности активированных CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток и субпопуляций NK и дендритных клеток (Triebel F, et al., J. Exp. Med. 1990; 171:1393-1405; Workman CJ, et al., J. Immunol. 2009; 182(4):1885-91). LAG-3 тесно связан с CD4, который представляет собой корецептор для клеточной активации Т-хелперов. Обе молекулы содержат четыре внеклеточных подобных Ig домена и требуют связывания с их лигандом, главным комплексом гистосовместимости (МНС) класса II, для своей функциональной активности. В отличие от CD4, LAG-3 экспрессируется только на клеточной поверхности активированных Т-клеток и его отщепление с клеточной поверхности прекращает передачу сигнала LAG-3. LAG-3 также может быть обнаружен в виде растворимого белка, но он не связывается с МНС класса II и его функция неизвестна.

Сообщалось, что LAG-3 выполняет важную роль в содействии активности регуляторных Т-клеток (Treg) и в негативной регуляции активации и пролиферации Т-клеток (Workman CJ, et al., J. Immunol. 2005; 174:688-695). Как природные, так и индуцированные Treg экспрессируют повышенный уровень LAG-3, который необходим для их максимальной супрессивной функции (Camisaschi C, et al., J. Immunol. 2010; 184:6545-6551 и Huang CT, et al., Immunity. 2004; 21:503-513). Кроме того, эктопическая экспрессия LAG-3 на CD4⁺ эффекторных Т-клетках снижала их пролиферативную способность и влияла на их регуляторный потенциал против сторонних Т-клеток (Huang CT, et al., Immunity. 2004; 21:503-513). В недавних исследованиях также показали, что высокая экспрессия LAG-3 на истощенных специфических к вирусу лимфоцитарного хореоменингита (LCMV) CD8⁺ Т-клетках способствует их состоянию неотвечаемости и ограничивает противоопухолевые ответы CD8⁺ Т-клеток (Blackburn SD, et al., Nat. Immunol. 2009; 10:29-37 и Grosso JF, et al., J. Clin. Invest. 2007; 117:3383-3392). На самом деле, LAG-3 поддерживали толерантность к собственным и опухолевым антигенам посредством

прямого воздействия на CD8⁺ Т-клетки в 2 мышинных моделях (Grosso JF, et al., J. Clin. Invest. 2007; 117:3383-3392).

Вирусная инфекция Эпштейна-Барра представляет собой еще один фактор для рассмотрения в потенциальной индукции истощения Т-клеток при гематологических злокачественных опухолях. Известно, что связанный с EBV CLL, синдром Рихтера, а также случаи лимфомы, как правило, более агрессивны, чем их EBV(-) аналог (Tsimberidou AM, et al., Leuk Lymphoma 2006;47:827; Ansell SM, et al., Am J Hematol 1999;60:99.; Dolcetti R, et al., Infectious Agents and Cancer 2010;5:22; Kanakry JA, et al., Blood 2013;121:3547). Интересно, что экспрессия таких ингибиторов контрольных точек, как PD-L1 и LAG-3, также была зарегистрирована при связанных с EBV злокачественных новообразованиях (Green MR, et al., Clin Cancer Res 2012;18:1611; Monti S, et al., Blood 2005;105:1851). Высокая экспрессия LAG-3, по сути, была зарегистрирована при хронических вирусных инфекциях, и его блокада антителами к LAG-3 смогла снизить вирусные титры и экспрессию ингибиторов контрольных точек в мышинных моделях (Blackburn SD, et al., Nat. Immunol. 2009;10:29-37). Кроме того, экспрессию LAG-3, отдельно или в сочетании с другими маркерами, оценивали в качестве прогностического маркера при CLL и лимфоме Ходжкина (Zhang J, et al., BMC Bioinformatics 2010;11(Suppl 9):S5; Kotaskova J, et al., J Mol Diagn 2010;12(3):328–334). Последние данные указывают на то, что экспрессия LAG-3 на проникающих в опухоль лимфоцитах (TIL) и периферической крови опосредует истощение Т-клеток при гемобластозах (Dickinson JD, et al., Leuk Lymphoma 2006;47(2):231-44). Кроме того, блокада LAG-3 посредством специфических антител показала противоопухолевую активность при лейкозе (Berrien-Elliott, M, et al., Cancer Research 2013; 73(2):605–616) и моделях солидных опухолей (Woo, S-R, et al., Cancer Research 2011; 72(4):917–927; Goding, S. R., et al., Journal of Immunology, Baltimore, Md. 1950; 190(9):4899–909). Поэтому, LAG-3 представляет собой терапевтическую мишень при гемобластозах. Его блокада антителом к LAG-3, отдельно и в сочетании со стандартом медицинской помощи (например, ибрутинибом, леналидомидом) или с другими ингибиторами контрольных точек (например, ниволумабом), заслуживает дальнейшего изучения в клинических исследованиях.

Соответственно, задача настоящего изобретения заключается в обеспечении улучшенных способов лечения субъектов с гематологическими злокачественными опухолями с использованием иммунотерапии к LAG-3.

Краткое раскрытие настоящего изобретения

В настоящем документе предусмотрены способы лечения злокачественных опухолей, в частности, гематологических злокачественных опухолей (например, злокачественных опухолей, происходящих из миелоидных или лимфоидных клеточных линий, такие как лейкозы, лимфомы и миеломы) у пациента-человека, предусматривающие введение пациенту антитела к LAG-3, причем антитело вводят (или оно предусмотрено для введения) в соответствии с конкретной клинической схемой приема лекарственного средства (т.е. в определенной дозе и в соответствии с определенным графиком дозирования). Согласно одному варианту осуществления пациент-человек страдает от рецидивирующего или рефрактерного хронического лимфоцитарного лейкоза или лимфомы, например, хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), лимфомы Ходжкина (HL) или неходжкинской лимфомы (NHL).

Иллюстративное антитело к LAG-3 представляет собой BMS-986016, содержащее тяжелые и легкие цепи, характеризующиеся последовательностями, представленными в SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно, или его антигенсвязывающие фрагменты и их варианты (смотрите, например, WO 2014/008218). Согласно другим вариантам осуществления антитело содержит определяющие комплементарность области (CDR) или переменные области (VR) тяжелой и легкой цепи BMS-986016. Соответственно, согласно одному варианту осуществления антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи (VH) BMS-986016, характеризующиеся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи (VL) BMS-986016, характеризующиеся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 5. Согласно другому варианту осуществления антитело содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO: 7, 8, и 9, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленные в SEQ ID NO: 10, 11, и 12, соответственно. Согласно другому варианту осуществления антитело содержит области VH и/или VL, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 3 и/или SEQ ID NO: 5, соответственно. Согласно другому варианту осуществления антитело содержит области VH и/или VL, кодируемые последовательностями нуклеиновых кислот, представленными в SEQ ID NO: 4 и/или SEQ ID NO: 6, соответственно. Согласно другому варианту осуществления антитело конкурирует за связывание с и/или связывается с тем же эпитопом на LAG-3, что и указанные выше антитела. Согласно другому варианту осуществления антитело характеризуется идентичностью аминокислотной последовательности переменной области, составляющей по меньшей мере приблизительно 90%, по отношению к

вышеупомянутым антителам (например, по меньшей мере приблизительно 90%, 95% или 99% идентичности вариабельной области с SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 5).

Соответственно, согласно одному аспекту предусмотрены способы лечения рецидивирующего или рефрактерного хронического лимфоцитарного лейкоза и лимфомы (например, CLL, HL или NHL) у пациента-человека, способы, предусматривающие введение пациенту эффективного количества:

антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 5,

причем способ предусматривает по меньшей мере один цикл введения, причем цикл представляет собой восьминедельный период, причем для каждого из по меньшей мере одного цикла четыре дозы антитела к LAG-3 вводят в дозе 20, 80, 240 или 800 мг. Согласно другому варианту осуществления четыре дозы антитела к LAG-3 вводят в дозе приблизительно 0,03, 0,25, 1 или 3 мг/кг массы тела.

Согласно одному варианту осуществления антитело к LAG-3 вводят в следующих дозах:

- (a) 20 мг антитела к LAG-3;
- (b) 80 мг антитела к LAG-3;
- (c) 240 мг антитела к LAG-3 или
- (d) 800 мг антитела к LAG-3.

Согласно другому варианту осуществления антитело к LAG-3 вводят в следующих дозах:

- (a) 0,03 мг/кг антитела к LAG-3;
- (b) 0,03 мг/кг антитела к LAG-3;
- (c) 0,25 мг/кг антитела к LAG-3-;
- (d) 1 мг/кг антитела к LAG-3 или
- (e) 3 мг/кг антитела к LAG-3.

Согласно одному варианту осуществления дозу антитела к LAG-3 рассчитывают в мг/кг массы тела. Согласно другому варианту осуществления доза антитела к LAG-3 представляет собой базовую фиксированную дозу. Согласно другому варианту осуществления используется промежуточная доза антитела к LAG-3. Например, антитело к LAG-3 можно вводить в дозе 0,4 мг/кг. Согласно другому варианту осуществления режимы

дозирования регулируют так, чтобы обеспечить оптимальный желаемый ответ (например, эффективный ответ).

Согласно другому варианту осуществления антитело к LAG-3 вводят в дни 1, 15, 29 и 43 каждого цикла. Согласно другому варианту осуществления лечение состоит из вплоть до 12 циклов.

Согласно одному варианту осуществления антитело к LAG-3 вводят в качестве первой ("фронтальной") линии лечения (например, начальное или первичное лечение). Согласно другому варианту осуществления антитело к LAG-3 вводят в качестве второй линии лечения (например, после начального лечения с таким же или другим терапевтическим средством, включая в себя после рецидива и/или тогда, когда первичное лечение потерпело неудачу). Антитела к LAG-3 можно вводить субъекту любым подходящим способом. Согласно одному варианту осуществления антитело составляют для внутривенного введения.

Эффективность предусмотренных в настоящем документе способов лечения может быть оценена с использованием любого подходящего средства. Согласно одному варианту осуществления лечение приводит по меньшей мере к одному терапевтическому эффекту, например, уменьшению числа злокачественных клеток с течением времени, полному ответу, частичному ответу и стабильному состоянию заболевания.

В настоящем изобретении также предусмотрены наборы, которые содержат фармацевтическую композицию, содержащую антитело к LAG-3, такое как BMS-986016, и фармацевтически приемлемый носитель в терапевтически эффективном количестве, адаптированном для применения в описанных в настоящем документе способах. Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения набор содержит:

(a) дозу антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 5; а также

(b) инструкции по применению антитела к LAG-3 в способе согласно настоящему изобретению.

Согласно другому аспекту предусмотрено антитело к LAG-3, содержащее домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 5, для введения по меньшей мере в одном цикле, причем для

каждого цикла четыре дозы антитела к LAG-3 вводят в дозе 20 , 80, 240 или 800 мг. Согласно другому варианту осуществления четыре дозы антитела к LAG-3 вводят в дозе 0,03, 0,25, 1 или 3 мг/кг массы тела.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1 представляет собой схему, иллюстрирующую части фазы I клинического испытания.

Фиг. 2 представляет собой схему, иллюстрирующую следующие фазы клинических испытаний: скрининг, лечение, последующее клиническое наблюдение и последующее наблюдение для оценки выживаемости.

На фиг. 3 приведена таблица, иллюстрирующая порядок отбора образцов на биомаркеры.

На фиг. 4 показаны результаты анализа ИHC LAG-3 в клетках NSCLC.

На фиг. 5 показаны результаты анализа ИHC LAG-3 в клетках карциномы желудка.

Фиг. 6 представляет собой график сравнения процента LAG-3-положительных клеток по отношению ко всем другим типам клеток в опухолевом срезе, в клетках меланомы.

Фиг. 7 представляет собой график сравнения процента LAG-3-положительных клеток по отношению ко всем другим типам клеток в опухолевом срезе, в клетках NSCLC.

Фиг. 8 представляет собой график сравнения процента LAG-3-положительных клеток по отношению ко всем другим типам клеток в опухолевом срезе, в клетках почечно-клеточной карциномы (RCC).

Фиг. 9 представляет собой график сравнения процента LAG-3-положительных клеток по отношению ко всем другим типам клеток в опухолевом срезе, в клетках карциномы желудка.

Фиг. 10 представляет собой график сравнения процента LAG-3-положительных клеток по отношению ко всем другим типам клеток в опухолевом срезе, в клетках плоскоклеточной карциномы головы и шеи.

Фиг. 11 представляет собой таблицу, в которой просуммирован процент LAG-3-положительных клеток в лимфоидных клетках (опухолевых клетках и TIL) по отношению ко всем другим типам клеток в опухолевом срезе на основании анализа световой микроскопии LAG-3 клеток неходжкинской лимфомы.

На фиг. 12 показаны результаты анализа ИHC LAG-3 в клетках NHL и DBLCL; (A) при малом увеличении и (B) при большом увеличении.

На фиг. 13 показаны результаты анализа ИHC LAG-3 в клетках NHL и FL; (A) при малом увеличении и (B) при большом увеличении.

На фиг. 14 показаны результаты анализа ИHC LAG-3 в клетках NHL, TMA и CLL; (A) при малом увеличении и (B) при большом увеличении.

Подробное описание настоящего изобретения

I. Определения

Используемый в настоящем документе термин "субъект" или "пациент" представляет собой пациента-человека со злокачественной опухолью (например, пациента с солидной опухолью на поздней стадии, такой как устойчивая к лечению солидная опухоль на поздней стадии).

Используемый в настоящем документе термин "гематологическая злокачественная опухоль" относится к типу злокачественной опухоли, которая поражает кровь, костный мозг и/или лимфатические узлы. Такие злокачественные опухоли характеризуются злокачественными или раковыми клетками и происходят от любой из двух основных клеточных линий крови, т.е. миелоидной клеточной линии (которая производит гранулоциты, эритроциты, тромбоциты, макрофаги и тучные клетки) или лимфоидной клеточной линии (которая производит В-, Т-, НК- и плазматические клетки). Эти злокачественные опухоли включают в себя все виды лейкозов, лимфом и миелом, например, острый, хронический, лимфоцитарный и/или миелоидный лейкозы, такие как острый лимфобластный лейкоз (ALL), острый миелоидный лейкоз (AML), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL) и хронический миелоидный лейкоз (CML), недифференцированный AML (M0), миелобластный лейкоз (M1), миелобластный лейкоз (M2; с клетками созревания), промиелоцитарный лейкоз (M3 или вариант M3 [M3V]), миеломоноцитарный лейкоз (M4 или вариант M4 с эозинофилией [M4E]), моноцитарный лейкоз (M5), эритролейкоз (M6), мегакариобластный лейкоз (M7), изолированная гранулоцитарная саркома и хлорлейкоз; такие лимфомы, как лимфома Ходжкина (HL), неходжкинская лимфома (NHL), В-клеточные лимфомы, Т-клеточные лимфомы, лимфоплазматитоидные лимфомы, моноцитотидная В-клеточная лимфома, лимфома лимфоидной ткани слизистых оболочек (MALT), анапластическая крупноклеточная лимфома, Т-клеточная лимфома/лейкоз взрослых, мантийно-клеточная лимфома, ангиоиммунобластная Т-клеточная лимфома, лимфангиома, кишечная Т-клеточная лимфома, первичная медиастинальная В-клеточная лимфома, периферическая лимфома Т-клеток, лимфобластная лимфома, посттрансплантационное лимфопролиферативное

нарушение, истинная гистиоцитарная лимфома, первичная лимфома центральной нервной системы, первичная выпотная лимфома, лимфобластная лимфома (LBL), лимфома Беркитта, диффузная гистиоцитарная лимфома (DHL), кожная Т-клеточная лимфома (CTLC) (также называемая как грибовидный микоз или синдром Сезари) и лимфоплазмацитоидная лимфома (LPL) с макроглобулинемией Вальденстрема; такие миеломы, как миелома IgG, миелома легкой цепи, несекреторная миелома, тлеющая миелома (называемая также как вялотекущая миелома), солитарная плазмоцитома и множественные миеломы. Конкретные злокачественные опухоли, которые могут быть подвергнуты лечению с использованием способов согласно настоящему изобретению, включают в себя, например, хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), лимфому Ходжкина (HL) или неходжкинскую лимфому (NHL).

Используемый в настоящем документе термин "эффективное лечение" относится к лечению, производящему положительный эффект, например, уменьшение интенсивности по меньшей мере одного симптома заболевания или нарушения. Положительный эффект может принимать форму улучшения по сравнению с исходным состоянием, то есть улучшение по сравнению с измерением или наблюдением, сделанным до начала терапии в соответствии со способом. Положительный эффект может также принимать форму остановки, замедления, задерживания или стабилизации пагубной прогрессии маркера гематологической злокачественной опухоли. Эффективное лечение может относиться к облегчению по меньшей мере одного симптома гематологической злокачественной опухоли. Такое эффективное лечение может, например, уменьшать боль пациента, уменьшать размер и/или количество злокачественных клеток, может уменьшать или предотвращать метастазирование злокачественной клетки и/или может замедлять рост злокачественных клеток.

Термин "эффективное количество" относится к количеству средства, которое обеспечивает требуемый биологический, терапевтический и/или профилактический результат. Этот результат может представлять собой снижение, уменьшение интенсивности, ослабление, уменьшение, задерживание и/или облегчение одного или нескольких признаков, симптомов или причин заболевания или любое другое желаемое изменение биологической системы. Ссылаясь на гематологическую злокачественную опухоль, эффективное количество предусматривает количество, достаточное для уменьшения скорости роста злокачественных клеток (например, для подавления прогрессирования злокачественной опухоли) или для предотвращения или задержки другой нежелательной пролиферации злокачественных клеток. Согласно некоторым

вариантам осуществления эффективное количество представляет собой количество, достаточное, чтобы задержать развитие злокачественных клеток. Согласно некоторым вариантам осуществления эффективное количество представляет собой количество, достаточное, чтобы предотвратить или задержать рецидив злокачественных клеток. Эффективное количество можно вводить в ходе одного или нескольких введений. Эффективное количество лекарственного средства или композиции может: (I) уменьшать количество злокачественных клеток; (II) ингибировать, уменьшать интенсивность, замедлять в некоторой степени и может останавливать инфильтрацию злокачественных клеток; (III) ингибировать (т.е. замедлять в некоторой степени) и может останавливать метастазирование злокачественных клеток; (IV) предотвращать или задерживать появление и/или рецидив злокачественных клеток, и/или (VII) облегчать в некоторой степени один или несколько симптомов, связанных со злокачественностью. В одном примере "эффективное количество" означает количество антитела к LAG-3, которое, как клинически доказано, влияет на значительное снижение злокачественности или замедление прогрессирования злокачественности, такое как увеличение числа злокачественных клеток. Используемые в настоящем документе термины "фиксированная доза", "базовая доза" и "базовая фиксированная доза" используются взаимозаменяемо и относятся к дозе, которую вводят пациенту без учета массы или площади поверхности тела (BSA) пациента. Фиксированная или базовая доза, следовательно, не предусмотрена в виде мг/кг, а, скорее в виде абсолютного количества средства (например, антитела к LAG-3).

Используемый в настоящем документе термин "основанная на площади поверхности тела (BSA) доза" относится к дозе (например, антитела к LAG-3), которая корректируется по отношению к площади поверхности тела (BSA) отдельного пациента. Основанная на BSA доза может быть предусмотрена в виде мг/кг массы тела. Были опубликованы различные расчеты получения BSA без прямого измерения, наиболее широко используемые из которых представляют собой формулу Дюбуа (Du Bois, EF, Arch. Intern. Medicine 1916; 17:863-871 и Verbraecken J, et al., Metabolism — Clinical and Experimental 2006;55(4): 515–24). Другие примеры формул BSA включают в себя формулу Мостеллер (Mosteller, et al., N. Engl. J. Med. 1987; 317:1098), формулу Хэйкок (Haycock, et al., J. Pediatr. 1978; 93:62-66), формулу Гехана и Джорджа (Gehan, et al., Cancer Chemother. Rep. 1970, 54:225-235), формулу Бойда (Current JD, The Internet Journal of Anesthesiology 1998, 2(2) и Boyd, Edith (1935), University of Minnesota. The Institute of Child Welfare, Monograph Series, No. x. London: Oxford University Press), формулу Фудзимото (Fujimoto S, et al., Nippon Eiseigaku Zasshi 1968;5:443-50), формулу Такахира (Fujimoto S, et al., Nippon Eiseigaku

Zasshi 1968;5:443-50) и формулу Шлиха (Schlich E, et al., Ernährungs Umschau 2010;57:178-183).

Термин "антитело" описывает полипептиды, содержащие по меньшей мере один полученный из антитела антигенсвязывающий сайт (например, область VH/VL или Fv, или CDR). Антитела включают в себя известные формы антител. Например, антитело может представлять собой человеческое антитело, гуманизированное антитело, биспецифическое антитело или химерное антитело. Антитело может также представлять собой Fab, Fab'2, ScFv, SMIP, Affibody®, нанотело или домен антитела. Антитело также может представлять собой любой из следующих изотипов: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgAsec, IgD и IgE. Антитело может представлять собой встречающееся в природе антитело или может представлять собой антитело, которое было изменено (например, путем мутации, делеции, замены, конъюгации с фрагментом неантитела). Например, антитело может включать в себя одну или несколько вариантных аминокислот (по сравнению с встречающимися в природе антителами), которые изменяют свойство (например, функциональное свойство) антитела. Например, в настоящей области техники известны многочисленные такие изменения, которые влияют, например, на период полураспада, эффекторную функцию и/или иммунную реакцию на антитело у пациента. Термин антитело также включает в себя искусственные полипептидные конструкции, которые содержат по меньшей мере один полученный из антитела антигенсвязывающий сайт.

Термин "LAG-3" относится к гену-3 активации лимфоцитов. Термин "LAG-3" включает в себя варианты, изоформы, гомологи, ортологи и паралоги. Например, специфические к человеческому белку LAG-3 антитела могут, в некоторых случаях, реагировать с белком LAG-3 от отличного от человеческого вида. Согласно другим вариантам осуществления антитела, специфические к человеческому белку LAG-3, могут быть полностью специфическими к человеческому белку LAG-3 и не могут проявлять видовые или другие типы реактивности, или могут реагировать с LAG-3 от некоторых других видов, но не от всех других видов (например, реагировать с LAG-3 обезьяны, но не LAG-3 мыши). Термин "человеческий LAG-3" относится к человеческой последовательности LAG-3, такой как полная аминокислотная последовательность человеческого LAG-3, характеризующегося номером доступа Genbank NP_002277 (SEQ ID NO: 13). Термин "мышинный LAG-3" относится к мышинной последовательности LAG-3, такой, как полная аминокислотная последовательность мышинового LAG-3, характеризующегося номером доступа Genbank NP_032505. LAG-3, также известен в настоящей области техники как, например, CD223. Последовательность человеческого

LAG-3 может отличаться от человеческого LAG-3 с номером доступа GenBank NP_002277 наличием, например, консервативных мутаций или мутаций в неконсервативных областях, и LAG-3 характеризуется по существу той же биологической функцией, что и человеческий LAG-3 с номером доступа GenBank NP_002277. Например, биологическая функция человеческого LAG-3 заключается в наличии эпитопа во внеклеточном домене LAG-3, который специфически связывается с антителом согласно настоящему описанию, или биологическая функция человеческого LAG-3 заключается в связывании с молекулами МНС класса II.

Термин "обезьяний LAG-3" предназначен для охвата белков LAG-3, экспрессируемых обезьянами Старого Света и Нового Света, включая в себя без ограничения LAG-3 яванского макака и LAG-3 макака-резуса. Репрезентативная аминокислотная последовательность для обезьяньего LAG-3 представляет собой аминокислотную последовательность LAG-3 макака-резуса, которая также сохраняется в виде номера доступа GenBank XM_001108923. Другая репрезентативная аминокислотная последовательность для обезьяньего LAG-3 представляет собой альтернативную последовательность макаки-резуса клона ra23-5, как описано в патенте США 2011/0150892 A1. Эта альтернативная последовательность резуса проявляет различие в одной аминокислоте в положении 419, по сравнению с сохраненной в GenBank последовательностью.

Конкретная человеческая последовательность LAG-3, как правило, по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности человеческого LAG-3 с номером доступа Genbank NP_002277 и содержит аминокислотные остатки, которые идентифицируют аминокислотную последовательность, как человеческую, по сравнению с аминокислотными последовательностями LAG-3 других видов (например, мышинных). В некоторых случаях человеческий LAG-3 может быть по меньшей мере на 95% или даже по меньшей мере на 96%, 97%, 98% или 99% идентичен по аминокислотной последовательности LAG-3 с номером доступа Genbank NP_002277. Согласно некоторым вариантам осуществления последовательность человеческого LAG-3 будет отображать не более 10 различий аминокислот от последовательности LAG-3 с номером доступа Genbank NP_002277. Согласно некоторым вариантам осуществления человеческий LAG-3 может отображать не более чем 5 или даже не более чем 4, 3, 2 или 1 различие аминокислот от последовательности LAG-3 с номером доступа Genbank NP_002277. Процент идентичности может быть определен, как описано в настоящем документе.

II. Антитела к LAG-3

Антитела к LAG-3 человека (или полученные из них домены VH/VL), пригодные для использования в настоящем изобретении, могут быть получены с использованием способов, хорошо известных в настоящей области техники. Альтернативно, можно использовать признанные в настоящей области техники антитела к LAG-3. Например, может быть использовано антитело к человеческому LAG-3, описанное в US2011/0150892 A1, содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки, и упоминаемое как моноклональное антитело 25F7 (также известное как "25F7" и "LAG3.1"). Другие признаваемые настоящей областью техники антитела к LAG-3, которые могут быть использованы, включают в себя IMP731, описанное в патенте США 2011/007023, содержание которого также включено в настоящий документ посредством ссылки.

Антитела, которые конкурируют с любым из вышеупомянутых известных в настоящей области техники антител за связывание с LAG-3, также могут быть использованы.

Иллюстративное антитело к LAG-3 представляет собой BMS-986016, содержащее тяжелые и легкие цепи, содержащие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно, или его антигенсвязывающие фрагменты и варианты, описанные в WO 2014/008218, содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно другим вариантам осуществления антитело содержит CDR или переменные области тяжелой и легкой цепи BMS-986016. Соответственно, согласно одному варианту осуществления антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VH BMS-986016, характеризующегося последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VL BMS-986016, характеризующегося последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 5. Согласно другому варианту осуществления антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 7, 8 и 9, соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 10, 11 и 12, соответственно. Согласно другому варианту осуществления антитело содержит области VH и/или VL, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 3 и/или SEQ ID NO: 5, соответственно. Согласно другому варианту осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и/или переменную область легкой цепи (VL), кодируемые последовательностями нуклеиновых кислот, представленными в SEQ ID NO: 4 и/или SEQ ID NO: 6, соответственно. Согласно другому варианту осуществления антитело конкурирует за связывание с и/или связывается с тем же эпитопом на LAG-3, что и указанные выше антитела. Согласно другому варианту

осуществления антитело связывается с эпитопом человеческого LAG-3, содержащего аминокислотную последовательность P_{GHPLAPG} (SEQ ID NO: 14). Согласно другому варианту осуществления антитело связывается с эпитопом человеческого LAG-3, содержащего аминокислотную последовательность HPAAPSSW (SEQ ID NO: 15) или PAAPSSWG (SEQ ID NO: 16).

Согласно другому варианту осуществления антитело характеризуется идентичностью аминокислотной последовательности вариабельной области, составляющей по меньшей мере приблизительно 90% по отношению к вышеуказанным антителам (например, по меньшей мере, идентичностью вариабельной области, составляющей приблизительно 90%, 95% или 99% с SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 5).

III. Фармацевтические композиции

Фармацевтические композиции, подходящие для введения пациентам-людям, как правило, составляют для парентерального введения, например, в жидком носителе, или он подходит для восстановления в жидком растворе или суспензии для внутривенного введения.

В общем, такие композиции, как правило, содержат фармацевтически приемлемый носитель. Используемый в настоящем документе термин "фармацевтически приемлемый" означает одобренный государственным регулирующим органом или перечисленный в фармакопее США или другой общепризнанной фармакопее для использования у животных, особенно у людей. Термин "носитель" относится к разбавителю, адьюванту, наполнителю или носителю, с которым вводят соединение. Такие фармацевтические носители могут представлять собой стерильные жидкости, такие как вода и масла, включая в себя масла, полученные из нефти, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло, глицерин полиэтиленгликоль, рицинолеат и т.п. Вода или водный солевой раствор и водные растворы декстрозы и глицерина могут быть использованы в качестве носителей, в частности, для растворов для инъекций (например, содержащих антитело к LAG-3). Жидкие композиции для парентерального введения могут быть составлены для введения путем инъекции или непрерывной инфузии. Пути введения посредством инъекции или инфузии включают в себя внутривенное, внутривентральное, внутримышечное, интратекальное и подкожное введение. Согласно одному варианту осуществления антитело к LAG-3 вводят внутривенно.

IV. Популяции пациентов

В настоящем документе предусмотрены клинические способы лечения гематологической злокачественной опухоли (например, рецидивирующего или рефрактерного хронического лимфоцитарного лейкоза или лимфомы) у пациентов-людей с использованием антитела к LAG-3.

Примеры злокачественных опухолей, которые можно лечить с использованием способов согласно настоящему изобретению, включают в себя все гематологические злокачественные опухоли, полученные из любой из двух основных клеточных линий крови, т.е. миелоидной клеточной линии (которая производит гранулоциты, эритроциты, тромбоциты, макрофаги и тучные клетки) или лимфоидной клеточной линии (которая производит В-, Т-, NK- и плазматические клетки). Эти злокачественные опухоли включают в себя все виды лейкозов, лимфом и миелом, например, острый, хронический, лимфоцитарный и/или миелоидный лейкозы, такие как острый лимфобластный лейкоз (ALL), острый миелоидный лейкоз (AML), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL) и хронический миелоидный лейкоз (CML), недифференцированный AML (M0), миелобластный лейкоз (M1), миелобластный лейкоз (M2; с клетками созревания), промиелоцитарный лейкоз (M3 или вариант M3 [M3V]), миеломоноцитарный лейкоз (M4 или вариант M4 с эозинофилией [M4E]), моноцитарный лейкоз (M5), эритролейкоз (M6), мегакариобластный лейкоз (M7), изолированная гранулоцитарная саркома и хлорлейкоз; такие лимфомы, как лимфома Ходжкина (HL), неходжкинская лимфома (NHL), В-клеточные лимфомы, Т-клеточные лимфомы, лимфоплазмацитоидные лимфомы, моноцитотидная В-клеточная лимфома, лимфома лимфоидной ткани слизистых оболочек (MALT), анапластическая крупноклеточная лимфома, Т-клеточная лимфома/лейкоз взрослых, мантийноклеточная лимфома, ангиоиммунобластомная Т-клеточная лимфома, лимфангиома, кишечная Т-клеточная лимфома, первичная медиастинальная В-клеточная лимфома, периферическая лимфома Т-клеток, лимфобластная лимфома, посттрансплантационное лимфопролиферативное нарушение, истинная гистиоцитарная лимфома, первичная лимфома центральной нервной системы, первичная выпотная лимфома, лимфобластная лимфома (LBL), лимфома Беркитта, диффузная гистиоцитарная лимфома (DHL), кожная Т-клеточная лимфома (CTLC) (также называемая как грибовидный микоз или синдром Сезари) и лимфоплазмацитоидная лимфома (LPL) с макроглобулинемией Вальденстрема; такие миеломы, как миелома IgG, миелома легкой цепи, несекреторная миелома, тлеющая миелома (называемая также как вялотекущая миелома), солитарная плазмоцитома и множественные миеломы. Конкретные злокачественные опухоли, которые могут быть подвергнуты лечению с использованием

способов согласно настоящему изобретению, включают в себя, например, хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), лимфому Ходжкина (HL) или неходжкинскую лимфому (NHL).

Согласно одному варианту осуществления пациент-человек страдает от рецидивирующего или рефрактерного хронического лимфоцитарного лейкоза или лимфомы. Согласно конкретному варианту осуществления пациент-человек страдает от хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), лимфомы Ходжкина (HL) или неходжкинской лимфомы (NHL).

Пациенты могут быть исследованы или выбраны по одному или нескольким из описанных выше клинических признаков до, во время или после лечения.

V. Протоколы лечения

Подходящие протоколы лечения для лечения гематологических злокачественных опухолей у пациента-человека включают в себя, например, введение пациенту эффективного количества:

антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 5,

причем способ предусматривает по меньшей мере один цикл введения, причем цикл представляет собой восьминедельный период, причем для каждого из по меньшей мере одного цикла по меньшей мере четыре дозы антитела к LAG-3 вводят в базовой дозе приблизительно 1, 3, 10, 20, 50, 80, 100, 130, 150, 180, 200, 240, 280, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 или 800 мг. Согласно другому варианту осуществления четыре дозы антитела к LAG-3 вводят в дозе 0,01, 0,03, 0,25, 0,1, 0,3, 1 или 3, 5, 8 или 10 мг/кг массы тела.

Согласно одному варианту осуществления антитело к LAG-3 вводят в следующих дозах:

- (a) 20 мг антитела к LAG-3;
- (b) 80 мг антитела к LAG-3;
- (c) 240 мг антитела к LAG-3 или
- (d) 800 мг антитела к LAG-3.

Согласно другому варианту осуществления антитело к LAG-3 вводят в следующих дозах:

- (a) 0,3 мг/кг антитела к LAG-3;

- (b) 0,25 мг/кг антитела к LAG-3;
- (c) 1 мг/кг антитела к LAG-3 или
- (d) 3 мг/кг антитела к LAG-3.

Согласно одному варианту осуществления дозу антитела к LAG-3 рассчитывают на массу тела, например, мг/кг массы тела. Согласно другому варианту осуществления доза антитела к LAG-3 представляет собой базовую фиксированную дозу. Согласно другому варианту осуществления доза антитела к LAG-3 изменяется с течением времени. Например, антитело к LAG-3 может быть первоначально введено в высокой дозе, и она может быть снижена с течением времени. Согласно другому варианту осуществления антитело к LAG-3 первоначально вводят в низкой дозе, и она увеличивается с течением времени.

Согласно другому варианту осуществления количество вводимого антитела к LAG-3 представляет собой постоянное для каждой дозы. Согласно другому варианту осуществления количество вводимого антитела изменяется с каждой дозой. Например, поддерживающая (или последующая) доза антитела может быть выше или такой же, как и нагрузочная доза, которую вводят вначале. Согласно другому варианту осуществления поддерживающая доза антитела может быть ниже или такой же, как нагрузочная доза.

Согласно другому варианту осуществления антитело к LAG-3 составляют для внутривенного введения. Согласно одному варианту осуществления антитело к LAG-3 вводят в дни 1, 15, 29 и 43 каждого цикла.

Согласно другим вариантам осуществления антитело к LAG-3 вводят один раз в неделю, один раз каждые три или две недели, один раз в месяц или до тех пор, пока наблюдается клинический эффект, или до тех пор, пока не будет полного ответа, подтвержденного прогрессирующего заболевания или неуправляемой токсичности.

Согласно другому варианту осуществления цикл введения составляет восемь недель, которые могут быть повторены по мере необходимости. Согласно другому варианту осуществления лечение состоит из вплоть до 12 циклов.

Согласно другому варианту осуществления 4 дозы антитела к LAG-3 вводят в течение восьминедельного цикла.

Согласно другому варианту осуществления антитело к LAG-3 вводят в качестве первой линии лечения (например, начального или первичного воздействия). Согласно другому варианту осуществления антитело к LAG-3 вводят в качестве второй линии лечения (например, после начального или первичного воздействия, включая в себя после рецидива и/или когда первичное воздействие потерпело неудачу).

VI. Результаты

Ответы на терапию могут включать в себя следующие критерии:

КРИТЕРИИ ОТВЕТОВ ДЛЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ЛИМФОМЫ
МЕЖДУНАРОДНОЙ РАБОЧЕЙ ГРУППЫ 2007 (IWG) (Cheson, BD, et al. *J Clin Oncol.*
2007; 25:579)

Ответ	Описание	Степень поражения узлов	Селезенка, печень	Костный мозг
CR	Исчезновение всех признаков заболевания	(а) Поглощающие ФДГ или ПЭТ-положительные узлы до терапии; остаточная масса любого размера разрешена в случае отрицательной ПЭТ; (b) переменного поглощающие ФДГ или ПЭТ-отрицательные узлы; регрессия до нормального размера на КТ	Не ощутимы, узлы исчезли	Инfiltrат очищен при повторной биопсии; если не определено по морфологии, иммуногистохимия должна быть отрицательной
PR	Регресс измеримого заболевания и никаких новых участков	Снижение на $\geq 50\%$ в SPD вплоть до 6 крупнейших доминирующих масс (индекс поражений); никакого увеличения размера других узлов (неиндексированные поражения) (а) поглощающие ФДГ или ПЭТ-положительные узлы до терапии; один или несколько ПЭТ положительных в ранее вовлеченном участке (b) переменного поглощающие ФДГ или ПЭТ-отрицательные узлы; регрессия на КТ	Снижение на $\geq 50\%$ в SPD узлов (для одного узла в наибольшем поперечном диаметре); нет увеличения в размере печени и селезенки	Неприменимо, если положителен до терапии; должен быть указан тип клеток

SD	Неспособность достичь CR/PR или PD	((а) Поглощающие ФДГ или ПЭТ-положительные узлы до терапии; ПЭТ-положительные на предыдущих участках заболевания и без каких-либо новых участков на КТ или ПЭТ (b) переменнo поглощающие ФДГ или ПЭТ-отрицательные; никаких изменений в размере предыдущих поражений на КТ	N/A	N/A
Рецидив заболевания или PD	Любое новое повреждение или увеличение на $\geq 50\%$ ранее задействованных участков по отношению к максимальному снижению	Появление нового поражения(й) $> 1,5$ см в любой оси, увеличение на $\geq 50\%$ в SPD более одного узла (индекс повреждений) или увеличение на $\geq 50\%$ самого длинного диаметра ранее идентифицированного узла > 1 см в короткой оси, поражения ПЭТ-положительные, если лимфома поглощает ФДГ или ПЭТ положительная до терапии	Увеличение на $> 50\%$ по сравнению с максимальным снижением в SPD любых предыдущих поражений	Новое или рецидивирующее вовлечение

Ключ: CR = полная ремиссия, КТ = компьютерная томография; ФДГ = [18F] фтордезоксиглюкоза; IWG = Международная рабочая группа; NA = не применимо; PD = прогрессирующее заболевание; ПЭТ = позитронно-эмиссионная томография; PR = частичная ремиссия; SD = стабильное заболевание; SPD = сумма произведений диаметров.

КРИТЕРИИ ОТВЕТОВ ДЛЯ CLL С МОДИФИКАЦИЯМИ МЕЖДУНАРОДНОЙ РАБОЧЕЙ ГРУППЫ 2008 (IWG) (Hallek M, et al., Blood. 2008;111(12):5446 – 5456)

ПОЛНАЯ РЕМИССИЯ (CR)

- Отсутствие лимфаденопатии путем физического осмотра и соответствующих рентгенологических способов. Лимфатические узлы не должны быть более чем 1,5 см в диаметре.
- Нет гепатомегалии или спленомегалии при физическом осмотре или при использовании соответствующих рентгенологических способов, если в клиническом испытании.
- • Отсутствие конституционных симптомов.
- • Нормальный анализ СВС, проявляемый в виде:
 - Полиморфноядерные лейкоциты $\geq 1500/\text{мкл}$
 - Лимфоциты крови $< 4000/\text{мкл}$
 - Тромбоциты $> 100\ 000/\text{мкл}$
 - Гемоглобин $> 11,0$ г/дл (без переливания или экзогенного эритропоэтина)

Аспират и биопсия костного мозга должны быть выполнены после того, как клинические и лабораторные результаты покажут, что все требования, перечисленные выше, были выполнены, чтобы продемонстрировать достижение CR. Костный мозг должен быть проанализирован с помощью проточной цитометрии и/или иммуногистохимии (ИНС), чтобы продемонстрировать, что костный мозг свободен от клоновых клеток В-CLL. Образец костного мозга должен быть по меньшей мере нормоклеточным по возрасту с лимфоцитами, составляющими $< 30\%$ ядродержащих клеток. Лимфоидные узлы следует оценивать с помощью ИНС, чтобы определить, состоят ли они в основном из Т-клеток или лимфоцитов, отличных от клеток или клеток CLL. Случаи с остаточными клетками CLL с помощью обычной проточной цитометрии или ИНС определяются как частичная ремиссия (PR). Если костный мозг представляет собой гипоцеллюлярный, повторное определение должно быть сделано в течение 4 - 6 недель. Образцы должны быть повторно рассмотрены в сравнении с предшествующим уровнем патологии.

Минимальное остаточное заболевание (MRD): осуществляется посредством 4-цветного потока, аллель-специфической олигонуклеотидной ПЦР с чувствительностью к 1 клетке CLL на 10000 лейкоцитов.

ПОЛНАЯ РЕМИССИЯ с неполным восстановлением костного мозга (CRi)

Иная CR, но у кого есть постоянная анемия, тромбоцитопения или нейтропения, которая, как представляется, связана с постоянной лекарственной токсичностью, а не с активностью заболевания. Долгосрочные результаты для этих пациентов могут отличаться от нецитопенической CR.

ЧАСТИЧНАЯ РЕМИССИЯ (PR)

По меньшей мере 2 из следующего:

Снижение на $\geq 50\%$ количества лимфоцитов периферической крови от исходного значения до лечения.

Снижение на $\geq 50\%$ в отмеченной до лечения увеличенной селезенке или печени.

Снижение на 50% в инфильтрате костного мозга или В-лимфоидных узлов.

Снижение на $\geq 50\%$ в лимфаденопатии (предпочтительно посредством КТ), как определено следующим образом:

- Уменьшение размеров лимфатических узлов на 50% или более либо суммы произведений до 6 лимфатических узлов, или наибольшего диаметра увеличенного лимфатического узла(ов), обнаруженного до терапии.

- Нет увеличения любого лимфатического узла и никакого нового увеличенного лимфатического узла. В маленьких лимфатических узлах (< 2 см) увеличение менее чем на 25% не считается существенным

- Уменьшение в указанных увеличенных до лечения селезенке или печени на 50% или более по данным сканирования КТ (предпочтительно).

По меньшей мере одно из следующего:

Полиморфноядерные лейкоциты ≥ 1500 /мкл или 50% улучшение по сравнению с исходным уровнем без необходимости экзогенных факторов роста.

Тромбоциты > 100000 /мкл или 50% улучшение по сравнению с исходным уровнем.

Гемоглобин $> 11,0$ г/дл или 50% улучшение по сравнению с исходным уровнем без переливаний.

ПРОГРЕССИРОВАНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ (PD)

По меньшей мере одно из следующего:

Появление любого нового поражения, такого как увеличенные лимфатические узлы ($> 1,5$ см), спленомегалия de novo, гепатомегалия de novo или другие органнне инфильтраты.

Увеличение на $> 50\%$ в наибольшем определяемом диаметре любого предыдущего участка. Лимфатический узел от 1 до 1,5 см должен увеличиться на 50% или более до размера, который больше чем на 1,5 см в самой длинной оси. Лимфатический узел более 1,5 см должен увеличиться до более чем 2,0 см в самой длинной оси.

Увеличение на 50% или более в сумме произведений диаметров нескольких узлов.

Увеличение на $\geq 50\%$ в размере печени или селезенки.

Увеличение на $\geq 50\%$ в абсолютном количестве циркулирующих лимфоцитов с > 5000 В-лимфоцитов на микролитр.

Переход к более агрессивной гистологии (например, синдром Рихтера). Всякий раз, когда это возможно, этот диагноз должен быть установлен с помощью биопсии лимфоузла.

Во время терапии цитопения не может быть использована для определения прогрессирования заболевания. После лечения прогрессирование любой цитопении (не связанной с аутоиммунной цитопенией), документируется следующим образом:

<p>a. снижение уровня гемоглобина на > 20 г/л (2 г/дл) или до < 100 г/л (10 г/дл) или</p> <p>b. снижение количества тромбоцитов более чем на 50% или менее чем до 100×10^9/л (100 000/мкл), которое происходит по меньшей мере через 3 месяца после лечения, определяет прогрессирование заболевания, если биопсия костного мозга демонстрирует инфильтрацию клоновых клеток CLL.</p>
<p>СТАБИЛЬНОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ (SD) Субъекты, которые не достигли CR или PR или которые не проявляли PD.</p>
<p>РЕЦИДИВ: определяется у пациента, который ранее достиг вышеуказанных критериев ("полная ремиссия", "частичная ремиссия") CR или PR, но после периода 6 или более месяцев демонстрирует доказательства прогрессирования заболевания (смотрите предшествующее обсуждение прогрессирующего заболевания).</p>

Пациенты, получавшие лечение в соответствии с описанными в настоящем документе способами, преимущественно характеризовались улучшением по меньшей мере одного признака злокачественной опухоли. Согласно одному варианту осуществления улучшение измеряется уменьшением количества злокачественных клеток. Согласно другому варианту осуществления клинический анализ крови и/или мазок крови может быть использован для оценки чувствительности к терапии. Согласно другому варианту осуществления биопсия из лимфатического узла и/или биопсия костного мозга может быть использована для оценки чувствительности к терапии.

Согласно одному варианту осуществления подвергаемый лечению пациент проявляет полный ответ (CR), частичный ответ (PR), стабильное заболевание (SD), связанное с иммунитетом полное заболевание (irCR), связанный с иммунитетом частичный ответ (irPR) или связанное с иммунитетом стабильное заболевание (irSD). Согласно другому варианту осуществления подвергаемый лечению пациент испытывает уменьшение скорости роста опухолевых клеток, т.е. подавление роста злокачественных клеток. Согласно другому варианту осуществления рецидивы злокачественных клеток можно предотвратить или отсрочить; один или несколько из симптомов, связанных со злокачественной опухолью, может быть ослаблен в определенной степени.

Согласно другим вариантам осуществления введение эффективных количеств антитела к LAG-3 в соответствии с любым из приведенных в настоящем документе способов вызывает по меньшей мере один терапевтический эффект, выбранный из группы,

состоящей из уменьшения числа злокачественных клеток появляющихся с течением времени, полной ремиссии, частичной ремиссии или стабилизации заболевания. Согласно еще другим вариантам осуществления способы лечения вызывают сопоставимую частоту клинической эффективности ($CBR = CR + PR + SD \geq 6$ месяцев) лучше, чем достигаемая с помощью антитела к LAG-3 по сравнению с другой схемой лечения. Согласно другим вариантам осуществления улучшение частоты клинической эффективности составляет приблизительно 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или более по сравнению с другой схемой лечения.

VII. Наборы и единичные лекарственные формы

В настоящем документе также предусмотрены наборы, которые содержат фармацевтическую композицию, содержащую антитело к LAG-3, такое как BMS-986016, и фармацевтически приемлемый носитель, в терапевтически эффективном количестве, адаптированном для использования в предыдущих способах. Наборы также необязательно могут содержать инструкции, например, содержащие графики введения, чтобы позволить практикующему врачу (например, врачу, медсестре или пациенту) вводить содержащуюся в нем композицию пациенту, характеризующемуся наличием злокачественной опухоли (например, солидной опухоли). Набор также может содержать шприц.

Необязательно, наборы содержат множественные пакеты однодозовых фармацевтических композиций, каждая из которых содержит эффективное количество антитела к LAG-3 для однократного введения в соответствии с предусмотренными выше способами. Приборы и устройства, необходимые для введения фармацевтической композиции(й), также могут быть включены в наборы. Например, набор может обеспечивать один или несколько предварительно заполненных шприца, содержащих некоторое количество антитела к LAG-3.

Согласно одному варианту осуществления в настоящем изобретении предусмотрен набор для лечения гематологических злокачественных опухолей у пациента-человека, набор, содержащий:

(a) дозу антитела к LAG-3, содержащего домены CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 3, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи, характеризующейся последовательностью, представленной в SEQ ID NO: 5; а также

(b) инструкции по применению антитела к LAG-3 в любом из способов и клинических режимах дозирования, описанных в настоящем документе.

Следующие примеры представляют собой только иллюстративные и не должны быть истолкованы как ограничивающие объем настоящего раскрытия любым образом, поскольку много вариантов и эквивалентов будут очевидны для специалистов в настоящей области техники после прочтения настоящего раскрытия.

Содержание всех ссылок, записей GenBank, патентов и опубликованных патентных заявок, цитируемых в настоящей заявке, включено в настоящий документ посредством ссылки.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Доклиническая фармакология антитела к LAG-3 (BMS-986016)

Антитело к LAG-3, BMS-986016

BMS-986016 представляет собой полностью человеческое антитело, специфическое к человеческому LAG-3, которое было выделено из иммунизированных трансгенных мышей, экспрессирующих гены человеческого иммуноглобулина. Оно экспрессируется как антитело изотипа IgG4, которое включает в себя стабилизирующую шарнир мутацию (S228P) для связывания ослабленного Fc-рецептора с целью снижения или исключения возможности опосредованного антителом или комплементом лизиса клеток-мишеней. Аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепи BMS-986016 представлены в SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно.

Способность BMS-986016 связывать рекомбинантный человеческий антиген LAG-3 определяли с использованием Вiasore и твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Связывание с LAG-3⁺ трансфектантами человека и примата и с активированными Т-клетками человека или примата измеряли с использованием проточной цитометрии и анализов Скэтчарда. BMS-986016 связывается с человеческим LAG-3 с высоким сродством ($K_D = 0,12-0,5$ нМ) и ингибирует связывание LAG-3 с клетками, экспрессирующими его лиганд, МНС класса II ($IC_{50}, 0,67$ нМ). BMS-986016 связывается с LAG-3 яванского макака на трансфицированных клетках CHO и на активированных Т-клетках яванского макака с более низкой аффинностью ($EC_{50}, 21,5-34,3$ нМ), чем на активированных Т-клетках человека. Высокая концентрация BMS-986016 при отсутствии вторичной костимуляции не вызывает никакого измеримого цитокинового ответа от культивируемых человеческих клеток периферической крови, и лекарственное средство не опосредует измеримое антителозависимое или комплементзависимое уничтожение клеток-мишеней. BMS 986016 способствует активации антигенспецифических мышинных Т-клеток гибридомы,

экспрессирующих человеческий LAG-3 в совместной культуре с положительной на МНС класса II антигенпрезентирующей клеткой. Кроме того, BMS-986016 усиливает активацию Т-клеток человека в анализах суперантигенной стимуляции при добавлении его одного или в комбинации с ниволумабом (антитело к PD-1).

Пример 2: Токсичность антитела к LAG-3 (BMS-986016)

Были проведены следующие доклинические исследования по токсикологии:

A. GLP-совместимое четырехнедельное внутривенное комбинированное исследование токсичности у яванских макак с 6-недельным восстановлением с BMS-986016 и ниволумабом.

Результаты, относящиеся к воздействию единственного средства BMS-986016 были следующими:

1. Единственное лекарственное средство BMS-986016, вводимое в дозе до 100 мг/кг/неделю, не приводило к неблагоприятным изменениям.
2. NOAEL для монотерапии с BMS-986016 рассматривали как 100 мг/кг/неделю (средняя AUC [0-168 ч] = 474000 мкг·ч/мл). Вводимые дозы (100 мг/кг BMS-986016) составляют ≥ 10 раз выше, чем максимальные дозы, предлагаемые для данного исследования.

B. GLP-совместимое тканевое исследование перекрестной реактивности в тканях человека и яванского макака с BMS-986016

Результаты, относящиеся к перекрестной реактивности, были следующими:

1. Позитивное окрашивание с BMS-986016-FITC, наблюдалось в плазматической мембране или гранулах плазматических мембран следующих тканей человека: мононуклеарные лейкоциты мочевого пузыря, клетки крови, толстой кишки, глаза, пищевода, тонкой кишки, желудка, почек, легкого, лимфатического узла, плаценты, слюнной железы, кожи, селезенки, тимуса, миндалина, матки - шейка матки и матки - эндометрия; и гемопоэтических клеток костного мозга. Кроме того, окрашивание с BMS-986016-FITC наблюдалась в цитоплазме эндокринных клеток эпителия гипофиза человека. В рамках ограниченной панели оцениваемых тканей яванского макака окрашивание с BMS-986016-FITC наблюдали в плазматической мембране или гранулах плазматических мембран мононуклеарных лейкоцитов селезенки.
2. С помощью научных докладов об экспрессирующих LAG-3 клетках в зародышевых центрах и межфолликулярных областях Т-клеток нормальных лимфоидных тканей человека (лимфатический узел, миндалина, селезенка, тимус,

костный мозг и лимфоидная ткань слизистой оболочки), а также характеризующихся морфологией и распределением лимфоцитов (Huard, et al., Immunogenetics 1994; 39(3):213-217), предполагалось окрашивание мононуклеарных лейкоцитов и гемопоэтических клеток с BMS-986016-FITC в этом исследовании (в тканях человека и яванского макака).

3. Ввиду того, что мРНК LAG-3 экспрессируется в человеческом гипофизе и окрашивание LAG3.1-G4P-FITC наблюдалось в аденогипофизе гипофиза человека в пилотном исследовании перекрестной реактивности ткани, также предполагалось окрашивание BMS-986016-FITC цитоплазмы и цитоплазматических гранул эндокринных клеток эпителия человеческого гипофиза. Хотя не ожидается, что BMS-986016 будет иметь доступ к цитоплазматическому компартменту *in vivo*, и токсикологические исследования повторных доз у обезьян не показали никакого влияния на гипофиз, эти данные могут иметь клиническое значение и будут контролироваться.

С. Оценка in vitro высвобождения цитокинов и активации лимфоцитов с BMS-986016 с использованием человеческих мононуклеарных клеток периферической крови

Результаты, относящиеся к оценке высвобождения цитокинов и активации лимфоцитов *in vitro*, были следующими:

1. BMS-986016 не индуцировал высвобождение цитокинов при представлении мононуклеарным клеткам периферической крови человека (PBMC) независимо от концентрации, донора или времени инкубации. Наблюдаемое содержание цитокинов составляло либо нижний предел количественного определения без признаков зависимости от дозы или паттерна среди доноров (IL-1 β , IL-2, IL-5, IL-10, IL-12p70 и IFN- γ), либо, как правило, перекрывалось с содержанием цитокинов из PBMC, инкубированных с отрицательным контролем (IL-6, IL-8, TNF- α).

2. В соответствии с отсутствием высвобождения цитокина, не было никаких доказательств того, что BMS-986016 индуцировал активацию Т- или НК-клеток, как измерено с помощью поверхностной экспрессии CD25 и CD69. Уровни экспрессии этих маркеров на Т- и НК-клетках после стимуляции BMS-986016 были аналогичны тем, которые наблюдаются при стимуляции отрицательными контролями.

В целом, эти данные указывают на то, что BMS-986016 не обладает агонистическим потенциалом индуцировать либо активацию Т- или НК-клеток, либо высвобождение цитокинов.

Пример 3: Доклинический метаболизм и фармакокинетика антитела к LAG-3 (BMS-986016)

В соответствии с нормативными рекомендациями по полученным биотехнологическим способом лекарственным средствам (Гармонизированное трехстороннее руководство ICH, S6 (R1) доклиническая оценка безопасности полученных биотехнологическим способом лекарственных средств. Международная конференция по гармонизации, 2011) никаких исследований метаболизма с BMS-986016 на животных не проводилось. Ожидаемая деградация *in vivo* моноклональных антител (mAb) происходит до малых пептидов и аминокислот посредством биохимических путей, которые не зависят от ферментов цитохрома P450.

BMS-986016 продемонстрировал благоприятные фармакокинетические (PK) свойства у яванских макаков. Из внутривенных исследований PK, как однократных доз, так и повторных доз, BMS-986016 распадался биэкспоненциально, и экспозиция была приблизительно пропорциональна дозе. Системный клиренс (CL_{Tr}) находится в диапазоне от 0,12 до 0,22 мл/ч/кг и конечный период полувыведения (T-_{1/2}) составлял от 133 до 414 часов. Объем распределения в равновесном состоянии (V_{ss}) составлял от 62 до 72 мл/кг, что предполагает ограниченное распространение вне плазмы. Антитела к BMS-986016 были обнаружены у некоторых обезьян, но наличие антител к □BMS-986016, по-видимому, не оказывало никакого влияния на воздействие BMS-986016.

Пример 4: Фаза 1 клинического испытания у пациентов с рецидивирующими или рефрактерными CLL и лимфомами

Фаза 1 клинического испытания антитела к LAG-3 (BMS-986016) проводится у пациентов с рецидивирующими или рефрактерными CLL и лимфомами, чтобы продемонстрировать эффективность введения BMS-986016 в качестве лечения.

Фаза 1 представляет собой открытое исследование BMS-986016, вводимого в качестве единственного средства субъектам с рецидивирующими или рефрактерными CLL и лимфомами. Исследование будет проводиться в 2 частях. Часть А состоит из дизайна 3 + 3 + 3 с эскалацией дозы у субъектов с рецидивирующей или резистентной CLL, HL и NHL. Часть В состоит из расширения когорты в 4 ограниченных заболеванием популяциях до приблизительно 12 субъектов в каждой (фиг. 1). Лечение в Части В будет начато, когда определится MTD (или MAD, если MTD не будет установлена) для Части А.

Субъекты завершат до 3-х периодов исследования: скрининг (до 28 дней), лечение (до максимально двенадцати 8-недельных циклов исследуемой терапии) и клиническое

наблюдение (135 дней после последней дозы исследуемого лекарственного средства, более длительный период наблюдения может рассматриваться в отдельных случаях, если сигнал эффективности очевиден). У WOCBP будут проводиться дополнительные последующие оценки через 165 дней в виде домашних тестов на беременность.

Период лечения состоит из вплоть до двенадцати 8-недельных циклов лечения. Каждый цикл лечения включает в себя 4 дозы BMS-986016, вводимого в дни 1, 15, 29 и 43. Субъектам будет разрешено продолжить исследуемую терапию до первого появления: (1) удовлетворения критериям для прекращения, (2) завершения максимального количества из двенадцати 8-недельных циклов, (3) подтверждения прогрессирующего заболевания (PD) или (4) клинического ухудшения. Субъекты, которые прекращают лечение, будут входить в 135-дневный период клинического наблюдения (фиг. 2).

Физические обследования, измерения жизненно важных показателей, электрокардиограммы в 12 отведениях (ЭКГ), пульсоксиметрии и клинические лабораторные анализы будут проводиться в определенные моменты времени в течение всего интервала дозирования. Субъекты будут внимательно следить за АЕ на протяжении всего исследования. Кровь будут собирать после начала введения исследуемого лекарственного средства для анализа фармакокинетики (PK).

Субъектам будет разрешено продолжать лечение до двенадцати 8-недельных циклов, подтверждения PD или до соответствия критериям для прекращения, как описано в материалах настоящей заявки. Субъекты могут продолжать исследование в общей сложности приблизительно до 2,3 лет, включая в себя 28-дневный период скрининга, до двенадцати 8-недельных циклов лечения, а также 135-дневный период клинического наблюдения. Общая продолжительность исследования, как ожидается, составит около 4,3 лет с момента первого визита первого субъекта до необходимого последующего периода включенного в исследование последнего субъекта.

Часть А: Эскалация дозы

В Части А, дизайн 3 + 3 + 3 будет использоваться для оценки безопасности BMS-986016. Уровни дозы, оцениваемые во время эскалации дозы, представлены на фиг. 1 и в таблице 1 (представлены ниже). Три субъекта будут первоначально подвергаться воздействию в каждой когорте дозы; в когорте дозы 1 первые 3 субъекта будут назначены в качестве сигнальных субъектов и будут начинать лечение по меньшей мере через 5 дней друг относительно друга. Субъектам в последующих когортах не потребуется соблюдать 5-дневный интервал между датами начала лечения.

Повышение дозы будет основываться на количестве DLT, исследованных в течение интервала оценки DLT, как это определено медицинским наблюдателем и исследователями. Интервал оценки DLT начинается в первый день лечения и продолжается в течение 8 недель, т.е. до 56 дня первого цикла.

Повышение дозы в Части А будет выполняться следующим образом:

- Если ни один из первых 3 оцениваемых субъектов в когорте дозы не испытывает DLT в пределах интервала оценки DLT, то следующие 3 субъекта будут подвергаться воздействию в следующей когорте более высокой дозы.

- Если 1 из первых 3 оцениваемых субъектов в когорте испытывает DLT в пределах интервала оценки DLT, тогда 3 дополнительных субъекта будут подвергаться воздействию в когорте этой дозы.

- Если не более чем 1 из первых 6 оцениваемых субъектов испытывает DLT в пределах интервала оценки DLT, тогда последующие 3 субъекта будут включены в следующую когорту более высокой дозы.

- Если 2 из первых 6 оцениваемых субъектов в когорте испытывают DLT, тогда когорта будет расширена до 9 оцениваемых субъектов.

- Если ≥ 2 из первых 3 оцениваемых субъектов, ≥ 3 из первых 6 оцениваемых субъектов или ≥ 3 из 9 оцениваемых субъектов в когорте испытывают DLT в пределах интервала оценки DLT, тогда уровень дозы будет превышать MTD и увеличение дозы будет прекращено.

Таблица 1: График повышения дозы для Части А

Номер когорты дозы	Доза BMS-986016 (внутривенно; мг)	Всего субъектов
1	20	n = приблизительно от 3 до 9
2	80	n = приблизительно от 3 до 9
3	240	n = приблизительно от 3 до 9
4	800	n = приблизительно от 3 до 9
Всего		N = приблизительно от 12 до 36

Часть В: Эскалация когорты

Цель эскалации когорты заключается в том, чтобы собрать дополнительную информацию о безопасности, переносимости, предварительной эффективности, РК и фармакодинамике BMS-986016. Выбранная для Части В доза не будет превышать MTD (или MAD, если MTD не определена) в Части А, может представлять собой дозу, промежуточную к дозам, оцененным в Части А, и она может включать в себя оценку других

данных, включая в себя отсроченные токсичности и РК и фармакодинамические данные из Части А. Также может быть использовано моделирование, чтобы помочь выбрать дозу, оцениваемую в Части В.

Четыре расширенные когорты будут ограничены типами опухолей, перечисленными на фиг. 1 и в таблице 2 (приведены ниже). Непрерывная оценка событий токсичности будет оцениваться на протяжении зачисления в расширенную когорту. Если, в любое время, суммарная степень связанных с лечением токсичностей, отвечающих критериям DLT, превышает 33% у всех субъектов, подвергнутых воздействию в расширениях когорт Части В, результаты будут обсуждаться с медицинским наблюдателем и исследователями; дальнейшее зачисление может быть прервано. В зависимости от природы и степени токсичности и после оценки соотношения риск:выгода, доза для всех или для отдельных когорт может быть уменьшена.

Таблица 2: Типы опухолей, подходящих для расширения когорт Части В

Тип опухоли ^a	Всего субъектов
Хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL)	приблизительно 12
Диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL)	приблизительно 12
Мантйноклеточная лимфома (MCL)	приблизительно 12
Лимфома Ходжкина (HL)	приблизительно 12
Всего	приблизительно 48

^a Все субъекты в Части В будут наивными к модулирующим иммунные клетки режимам антител (ICMAR), таким как без ограничения антитела к CTLA-4, к PD-1, к PD-L1, к PD-L2, к KIR, к CD137 и/или к OX40, за исключением терапии антителами к CD20, алемтузумаба или брентуксимаба.

Дозолимитирующие токсичности

С целью облегчения принятия решений в отношении эскалации дозы в Части А, дозолимитирующая токсичность (DLT) будет определяться на основании заболеваемости, интенсивности и длительности нежелательных явлений (AE), которые считаются связанными с исследуемым лечением. Интервал оценки DLT начинается в первый день лечения и продолжается до 56-го дня первого цикла (т.е. 8 недель). Нежелательные явления будут распределены в соответствии с общими критериями терминологии для нежелательных явлений (CTCAE) v4.0 Национального института рака (NCI). Для целей управления субъектами, любое AE, которое отвечает критериям DLT, независимо от цикла, в котором это происходит, приведет к прерыванию дозы.

Повышение дозы будет основываться на количестве DLT, испытанных в течение интервала оценки DLT, как это определено медицинским наблюдателем и исследователями.

Не допускается эскалация дозы у одного субъекта. Субъекты, которые получают по меньшей мере 1 дозу исследуемого лекарственного средства в течение 8-недельного интервала оценки, будут рассматриваться как те, у которых возможно определение DLT. Субъекты, которые вышли из исследования в течение интервала оценки DLT по причинам, отличным от DLT, и/или для которых данные о безопасности недоступны для всего интервала оценки DLT, могут быть заменены на том же уровне дозы. В случае, когда инфузия не может вводиться в запланированное посещение в течение интервала оценки DLT, она должна быть введена как можно скорее. Если задержка составляет от 1 до 7 дней, то должны быть выполнены процедуры в первоначально запланированный визит, и субъекты будут рассматриваться как те, у которых возможно определение DLT. Если задержка составляет более чем 7 дней, доза будет считаться пропущенной и не будет заменяться. Субъекты с задержкой более чем на 7 дней не будут рассматриваться как те, у которых возможно определение DLT. Субъекты, у которых не возможно определение, могут быть заменены на том же уровне дозы.

Продолжительность исследования

Субъектам будет разрешено продолжать лечение до двенадцати 8-недельных циклов, подтвержденного PD или до соответствия критериям для прекращения. Субъекты могут продолжать исследование в общей сложности приблизительно до 2,3 лет, включая 28 дней периода скрининга, до двенадцати 8-недельных циклов лечения, 135-дневный период клинического наблюдения, а также для WOCBP, дополнительные домашние тесты на беременность в течение 165 дней. Общая продолжительность исследования, как ожидается, составит приблизительно 4,3 года с момента первого визита первого субъекта до необходимого последующего периода наблюдения последнего зачисленного субъекта.

Количество субъектов

Приблизительно 84 субъекта могут быть подвергнуты дозированному введению (приблизительно 36 субъектов во время эскалации дозы и до 48 субъектов в расширении когорты).

Исследуемая популяция

Субъекты-мужчины и женщины с подтвержденными гистологически или цитологически CLL, лимфомой Ходжкина или неходжкинской лимфомой (включая в себя Т-клеточные и В-клеточные лимфомы), которые характеризуются рецидивами после

получения предварительного лечения или были резистентны к предшествующему лечению и которые отвечают всем критериям вступления будут иметь право на участие.

Эскалация дозы (Часть А)

Имеют право на участие взрослые пациенты с рецидивирующей или рефрактерной неходжкинской лимфомой (NHL), лимфомой Ходжкина (HL) или хроническим лимфоцитарным лейкозом (CLL).

Расширенная когорта (Часть В)

Четыре ограниченные заболеванием группы будут разрешены во время расширения когорты в таблице 2 (выше).

Части А и В

Количество нейтрофилов должно быть $> 750/\text{мкл}$ и количество тромбоцитов $> 50000/\text{мкл}$. Субъекты с первичной кожной лимфомой, лимфопролиферативными заболеваниями, связанными с первичными иммунодефицитами и связанными с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) лимфами исключаются. Пациенты с аутоиммунными нарушениями также исключаются.

Женщины не должны быть кормящими или беременными. WOCBP должны иметь отрицательный тест на беременность за 24 часа до получения их первой дозы исследуемого лекарственного средства. WOCBP должны согласиться следовать инструкциям по способу(ам) контрацепции в общей сложности 24 недели после последней дозы исследуемого лекарственного средства (период 30 дней плюс время, необходимое для того, чтобы исследуемое лекарственное средство прошло 5 периодов полураспада (т.е. всего 165 дней или 24 недели).

Мужчины, которые сексуально активны с WOCBP, должны согласиться следовать инструкциям по способу(ам) контрацепции на основе информации, содержащейся в Приложении 3, в общей сложности 33 недели после последней дозы исследуемого лекарственного средства (в течение 90 дней плюс время, необходимое для того, чтобы исследуемое лекарственное средство прошло 5 периодов полураспада (т.е. всего 225 дней или 33 недели).

Печеночные, негематологические и гематологические DLT определяются отдельно, как указано ниже.

1. Печеночная DLT

Любое из следующих связанных с лекарственным средством событий будет рассматриваться как печеночная DLT:

- Аланинаминотрансфераза (ALT) или аспартатаминотрансфераза (AST) $> 8 \times \text{ULN}$, независимо от продолжительности
- ALT или AST $> 5 \times$ и $\leq 8 \times \text{ULN}$, которые не возвращаются к ≤ 1 -й степени в течение 2 недель, несмотря на медицинское вмешательство
- Общий билирубин $> 5 \times \text{ULN}$
- ALT или AST $> 3 \times \text{ULN}$ и одновременно общий билирубин $> 2 \times \text{ULN}$

2. Негематологическая DLT

Любое из следующих связанных с лекарственным средством событий будет рассматриваться как негематологическая DLT:

- Глазная боль или снижение остроты зрения 2-й степени, которые требуют системного лечения
- Глазная боль или снижение остроты зрения 2-й степени, которые не отвечают на актуальные способы лечения и которые не улучшаются до 1 степени в течение 2-х недель от начала местной терапии
- Непеченочная или негематологическая токсичность ≥ 3 степени с исключениями, указанными ниже

Следующие негематологические события 3-й степени не будут считаться DLT:

- Электролитная аномалия 3-й степени, которая длится < 72 часа, не представляет собой клинически сложную и решается спонтанно или реагирует на обычное медицинское вмешательство
- Увеличение амилазы или липазы 3-й степени, которое не связано с симптомами, клиническими проявлениями или рентгенологическими признаками панкреатита
- Тошнота или рвота 3-й степени, которая длится < 48 часов и разрешается до ≤ 1 -й степени либо спонтанно, либо посредством обычного медицинского вмешательства
- Лихорадка 3-й степени, которая проходит в течение 72 часов и не связана с гемодинамическим компромиссом (включая в себя гипотонию или клинические или лабораторные признаки повреждения перфузии органа)
- Усугубление клинических проявлений опухоли 3-й степени (определяется как боль, раздражение или сыпь, которая локализуется на местах известной или подозреваемой опухоли)
- Усталость 3-й степени в течение менее чем 7 дней

3. Определение гематологической DLT

Любое из следующих связанных с лекарственным средством событий будет рассматриваться как гематологическая DLT:

- Анемия 4-й степени
- Фебрильная нейтропения 4-й степени любой продолжительности
- Нейтропения 4-й степени, которая не разрешается до 3-й степени или менее в течение 5 дней после начала гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF)
- Трансфузия тромбоцитов или количество тромбоцитов <10000 /мкл
- Тромбоцитопения 3-й степени, связанная с клинически значимым кровотечением
- Гемолиз 3-й степени
- Анемия 3-й степени у пациентов с анемией ≤ 1 -й степенью на исходном уровне

Субъекты, которые получают по меньшей мере 1 дозу исследуемого лекарственного средства в течение 8-недельного интервала оценивания, будут рассматриваться как те, у которых возможно определение DLT. В случае, когда исследуемое лекарственное средство не может быть введено в запланированное посещение в течение интервала оценивания DLT, оно должно быть введено как можно скорее. Если задержка составляет от 1 до 7 дней, то должны быть выполнены процедуры в первоначально запланированный визит, и субъекты будут рассматриваться как те, у которых возможно определение DLT. Если задержка составляет более чем 7 дней, доза будет считаться пропущенной и не будет заменяться. Субъекты с задержкой более чем на 7 дней не будут рассматриваться как те, у которых возможно определение DLT. Субъекты, у которых не возможно определение, могут быть заменены на том же уровне дозы. Субъекты, которые пропускают дозу на протяжении периода оценивания DLT, могут продолжать лечение, если субъект иным образом не отвечает критериям для досрочного завершения лечения.

Критерии включения

1. Подписанное письменное информированное согласие

Объект должен подписать одобренное IRB/IEC письменное информированное согласие и указать дату до выполнения каких-либо связанных с исследованием процедур, которые не считаются частью стандартной медицинской помощи.

Согласие на сбор образцов биопсии:

(I) Субъекты должны дать согласие, позволяющее выполнение биопсии опухоли (например, лимфатического узла) до лечения (все субъекты). Если биопсия опухоли до лечения не представляет собой клинически осуществимую, субъект должен дать согласие, позволяющее приобретение архивного образца опухоли (например, первичной опухоли, лимфатического узла и т.д.). Субъекты, которые не в состоянии обеспечить свежую

биопсию опухоли до лечения или архивный образец опухоли, не имеют право на зачисление. Субъекты, чья биопсия до лечения характеризуется неадекватным количеством или качеством ткани, не будут иметь право на зачисление только на этой основе.

(II) Субъекты должны дать согласие, позволяющее выполнение односторонней биопсии и/или аспирата костного мозга до лечения (все субъекты) и во время лечения при полном ответе (CR), частичном ответе (PR) или прогрессирующем заболевании (PD) по клиническим показаниям. Субъекты, у которых есть биопсия и/или аспират костного мозга с момента завершения их последней терапии, могут не использовать эти результаты вместо требуемой исходной биопсии костного мозга.

2. Целевая популяция

(a) Субъекты должны иметь гистологическое или цитологическое подтверждение хронического лимфоцитарного лейкоза, лимфомы Ходжкина или неходжкинской лимфомы и характеризоваться рецидивами после получения предварительного лечения или быть резистентными к предварительному лечению.

(b) Часть А - эскалация дозы:

(I) Хроническая лимфоцитарная лимфома

(II) Лимфома Ходжкина

(III) Неходжкинская лимфома

(c) Часть В - расширение когорты

(I) Хронический лимфоцитарный лейкоз

(II) Диффузная В-клеточная лимфома

(III) Мантийноклеточная лимфома

(IV) Лимфома Ходжкина

(V) Множественная миелома

(d) У субъектов должно быть по меньшей мере одно измеримое поражение $> 1,5$ см, определенное критериями ответа лимфомы (Cheson et al., J. Clin. Oncol. 2007;25(5):579-586) and CLL (Hallek et al., Blood 2008;111(12):5446-5456). Опухолевые участки, которые считаются измеримыми, не должны получать предварительную лучевую терапию

(e) Разрешено зачисление только субъектов без предварительного лечения с применением схем с модулирующими клетки иммунной системы антителами (ICMAR), такими как антитела к CTLA-4, к PD-1, к PD-L1, к PD-L2, к KIR, к CD137 или к OX40. Предшествующая терапия антителами к CD20, алемтузумабом или брентуксимабом допускается.

(f) Субъекты должны прогрессировать или быть устойчивыми по меньшей мере к одной предшествующей стандартной терапии, включающей в себя излучение, иммунотерапию, цитотоксическую химиотерапию и терапию с выбранным антителом (к CD20, алемтузумаб или брентуксимаб). Не рассматриваются следующие отдельные линии лечения: добавление соединения к постоянной схеме лечения, перезапуск одной и той же схемы лечения после пропуска лекарственного средства или переход от внутривенной к пероральной терапии.

(g) Субъекты не имеют права на трансплантацию или какую-либо стандартную терапию, известную как продлевающую жизнь или спасающую жизнь. (Субъекты, имеющие право на трансплантацию или какую-либо стандартную терапию, известную как продлевающая жизнь или спасающая жизнь и которые отказались от трансплантации или какой-либо стандартной терапии, известной как продлевающая жизнь или спасающая жизнь, имеют право на исследование.)

(h) Должно пройти более чем 100 дней после аутооттрансплантации субъектам.

(i) Состояние 0 или 1 по шкале Восточной объединенной онкологической группы (ECOG).

(j) Продолжительность жизни ≥ 10 недель во время информированного согласия по оценке исследователя

(k) Адекватная функция органов, определенная следующим образом:

(I) Нейтрофилы ≥ 500 /мкл (стабильные от любого фактора роста в пределах 1 недели первого введения исследуемого лекарственного средства)

(II) Тромбоциты $\geq 50 \times 10^3$ /мкл (трансфузия для достижения этого содержания не допускается в течение 2 недель после первого введения исследуемого лекарственного средства)

(III) Гемоглобин $\geq 8,5$ г/дл (трансфузия для достижения этого содержания не допускается в течение 2 недель после первого введения исследуемого лекарственного средства)

(IV) Креатинин $< 1,5 \times \text{ULN}$ или клиренс креатинина ≥ 40 мл/мин (формула Кокрофта-Голта)

(V) ALT и AST $\leq 3 \times \text{ULN}$

(VI) Общий билирубин $\leq 1,5 \times \text{ULN}$ (за исключением пациентов с синдромом Жильбера, которые должны иметь нормальный прямой билирубин)

(VII) Нормальная функция щитовидной железы или стабильная на гормональных добавках в оценке исследователя.

(l) Способность выполнять лечение, PK и фармакодинамический сбор образцов и необходимое наблюдение исследования.

(m) Повторное зачисление субъектов: Данное исследование разрешает повторное зачисление субъекта, который прекратил исследование из-за неудачи предварительного лечения (т.е. субъект не был рандомизирован или не подвергнулся воздействию). Если субъект вновь зачислен, он должен повторно дать согласие.

3. Возраст и репродуктивный статус

(a) Мужчины и женщины в возрасте ≥ 18 лет на момент информированного согласия.

(b) Женщины детородного возраста (WOCBP) должны иметь отрицательный тест на беременность по сыворотке или моче (тест на беременность по моче: минимальная чувствительность 25 МЕ/л или эквивалентные единицы человеческого хорионического гонадотропина [ХГЧ]) в течение 24 часов до начала исследования лекарственного средства.

(c) Женщины не должны кормить грудью.

(d) WOCBP должны согласиться следовать инструкциям по способу(ам) контрацепции в течение всего срока лечения с BMS-986016 плюс 5 периодов полураспада BMS-986016 (135 дней) плюс 30 дней (длительность овуляторного цикла) в общей сложности в течение 165 дней (24 недели) после завершения лечения.

(e) Мужчины, которые сексуально активны с WOCBP, должны согласиться следовать инструкциям по способу(ам) контрацепции в течение всего срока лечения с BMS-986016 плюс 5 периодов полураспада BMS-986016 (135 дней) плюс 90 дней (продолжительность обновления спермы) в общей сложности в течение 225 дней (33 недели) после завершения лечения.

Исследователи должны проконсультировать WOCBP и субъектов мужского пола, которые сексуально активны с WOCBP, о важности профилактики беременности и последствиях неожиданной беременности. Исследователи должны посоветовать WOCBP и субъектам мужского пола, которые ведут активную половую жизнь с WOCBP, использование высокоэффективных способов контрацепции. Высокоэффективные способы контрацепции характеризуются частотой неэффективности $<1\%$ в год при использовании последовательно и правильно.

Как минимум, субъекты должны согласиться с использованием 2-х способов контрацепции, один из которых представляет собой высокоэффективный, а другой либо высокоэффективный, либо менее эффективный.

(f) Мужчины с азооспермией и WOCBP, которые не представляют собой постоянно гетеросексуально активных, освобождаются от потребности в противозачаточных средствах. Тем не менее, WOCBP, которые воздерживаются от гетеросексуальной активности на постоянной основе, должны еще пройти тестирование на беременность, как описано в данном протоколе

Критерий исключения

1. Исключения целевого заболевания

(a) Субъекты с первичной кожной лимфомой, лимфопролиферативными заболеваниями, связанными с первичными иммунодефицитами, и лимфомами, связанными с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), исключаются.

(b) Субъекты с известными или подозреваемыми метастазами центральной нервной системы (ЦНС) или с ЦНС в качестве единственного места активного заболевания исключаются:

(I) Субъектам с контролируемыми метастазами в головном мозге будет позволено зачислиться. Контролируемые метастазы в головном мозге определяются как те, которые характеризуются отсутствием радиографического прогрессирования в течение не менее 4-х недель после облучения или хирургического лечения на момент согласия. Субъекты должны прекратить прием стероидов по меньшей мере за 2 недели до информированного согласия и не характеризоваться какими-либо новыми или прогрессивными неврологическими признаками и симптомами.

(II) Субъекты с признаками или симптомами метастазов в головном мозге не имеют права на зачисление, если метастазы в головном мозге не исключены с помощью компьютерной томографии (КТ) или магнитно-резонансной томографии (МРТ).

2. История болезни и сопутствующие заболевания

(a) Субъекты с предшествующим злокачественным новообразованием (опухолью) исключаются, кроме подвергаемых адекватному лечению субъектов с базальноклеточным или плоскоклеточным раком кожи, карциномой *in situ* шейки матки или мочевого пузыря или *in situ* протоковой или очаговой карциномы молочной железы. Субъекты с другими предшествующими злокачественными опухолями, диагностируемыми более чем 2 года назад (во время информированного согласия), которые получали терапию с лечебной целью без признаков заболевания в течение интервала и которые, как считает исследователь, представляют низкий риск рецидива, будут иметь право на зачисление.

(b) Субъекты с любым активным аутоиммунным заболеванием или известными или подозреваемыми аутоиммунными заболеваниями в анамнезе, за исключением субъектов с изолированным витилиго, устраненной детской бронхиальной астмой/атопией, контролируемым гипoadrenalизмом или гипопитуитаризмом и эутиреоидных пациентов с болезнью Грейвса в анамнезе (субъекты с контролируемым тиреотоксикозом должны быть негативны на тиреоглобулиновые и тиреопероксидазные антитела и тиреотропный иммуноглобулин до введения исследуемого лекарственного средства).

(c) Субъекты с аутоиммунной гемолитической анемией (АНА) или аутоиммунной тромбоцитопенией (ИТР), нуждающиеся в терапевтических дозах системных стероидов.

(d) Субъекты, претерпевшие какие-либо аллогенные трансплантации.

(e) Известное или основное медицинское состояние, которое, по мнению исследователя или спонсора, может сделать введение исследуемого лекарственного средства опасным для субъекта или может отрицательно повлиять на способность субъекта выполнять или переносить исследуемые процедуры и/или исследуемую терапию, или нарушить способность интерпретировать переносимость BMS-986016 у подвергаемых воздействию субъектов.

(f) Требование в ежедневном дополнительном кислороде.

(g) Неконтролируемые или значительные сердечно-сосудистые заболевания, включающие в себя без ограничения любое из следующих:

(I) Инфаркт миокарда или инсульт/транзиторная ишемическая атака (ТИА) в течение 6 месяцев до получения согласия.

(II) Неконтролируемая стенокардия в течение 3-х месяцев до получения согласия.

(III) Любые клинически значимые аритмии в анамнезе (такие как желудочковая тахикардия, фибрилляция желудочков или пируэтная тахикардия).

(IV) Пролонгация QT > 480 мс.

(V) Другие клинически значимые сердечно-сосудистые заболевания в анамнезе (т.е. кардиомиопатия, застойная сердечная недостаточность с функциональной классификацией III-IV Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA), перикардит, значительный перикардиальный экссудат).

(h) Положительный скрининг крови на ВИЧ-инфекцию или известный синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД).

(i) Любой хронический гепатит в анамнезе, о чем свидетельствует:

(I) Положительный тест на антитело гепатита А (HepA IgM). Примечание: устраненная вирусная инфекция гепатита А в анамнезе не представляет собой критерий исключения.

(II) Положительный тест на поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg) и/или коровый антиген гепатита В.

(III) Положительный тест на качественную вирусную нагрузку гепатита С (с помощью ПЦР).

(j) Доказательство активной инфекции, которая требует системной антибактериальной, противовирусной или противогрибковой терапии ≤ 7 дней до начала терапии исследуемого лекарственного средства

(k) Любое другое существенное острое или хроническое соматическое заболевание.

(l) Субъекты, которые не могут подвергаться пункции вен и/или иметь доступ к венам.

(m) Любая другая медицинская, психиатрическая и/или социальная причина, определяемая исследователем.

(n) Любая из следующих процедур или лекарственных средств:

(I) В течение 2-х недель до информированного согласия:

(1) Системные или местные кортикостероиды в иммуносупрессивных дозах ($\geq 7,5$ мг/день преднизолона или его эквивалента).

(2) Лекарственные растительные препараты.

(II) В течение 4-х недель до начала введения исследуемого лекарственного средства:

(1) Любое исследуемое лекарственное средство или плацебо.

(2) Любая противораковая терапия (химиотерапия, моноклональные антитела для противоопухолевого значения [например, терапия антителами к CD20, к CD30 или алемтузумаб], терапевтические вакцины, лучевая терапия или гормональная терапия).

(3) Неонкологические вакцины, содержащие живой вирус.

(4) Терапия снижения чувствительности к аллергенам.

(5) Обширное оперативное вмешательство.

(III) В течение 6 недель до начала исследования введения лекарственного средства:

(1) Нитрозмочевина, флударабин.

(IV) В течение 10 недель до начала исследования введения лекарственного средства: (1) Радиоактивные или токсинные иммуноконъюгаты (например, брентуксимаб).

3. Аллергии и нежелательная реакция на лекарственные средства

(а) В анамнезе аллергии к компонентам BMS-986016 (например, в анамнезе тяжелые реакции гиперчувствительности на лекарственные средства, составленные с полисорбатом 80).

4. Другие критерии исключения:

- (а) Заключенные или субъекты, которые находятся в местах лишения свободы.
- (б) Субъекты, которых задерживали для обязательного лечения психиатрических или физических (например, инфекционных заболеваний) заболеваний.
- (с) Неспособность соблюдать ограничения и запрещенные действия/процедуры.

Оценка безопасности

Нежелательные явления оцениваются непрерывно в ходе исследования и в течение 135 дней после последнего воздействия. Нежелательные явления оцениваются в соответствии с NCI CTCAE версии 4.0. Нежелательные явления кодируются с использованием самой последней версии медицинского словаря нормативно-правовой деятельности (MedDRA) и анализируются на предмет потенциальной значимости и важности.

Оценки эффективности

Оценки эффективности будут проводиться и сообщаться на eCRF с использованием соответствующей оценки эффективности в зависимости от типа опухоли. Субъекты с NHL или HL будут оцениваться с использованием пересмотренных критериев ответа на злокачественную лимфому (Cheson et al., J. Clin. Oncol. 2007;25(5):579-586). Пациенты с CLL будут оцениваться с использованием Руководства по диагностике и лечению хронического лимфоцитарного лейкоза (Hallek et al., Blood 2008;111(12):5446-56).

Вторичные оценки эффективности

Оценки заболеваний будут производиться между днями 50 и 56 каждого цикла лечения (до двенадцати 8-недельных циклов лечения) и в 30-дневный последующий визит. Опухолевые ответы будут оцениваться исследователем для субъектов с адекватными данными, как они определены по следующим критериям эффективности:

- Субъекты с NHL и HL: Пересмотренные критерии ответа на злокачественную лимфому.

- Субъекты с CLL: Руководство по диагностике и лечению хронического лимфоцитарного лейкоза.

Фармакокинетические анализы образцов

Образцы сыворотки будут проанализированы для BMS-986016 с помощью проверенного иммуноанализа. Кроме того, отобранные образцы сыворотки могут быть проанализированы с помощью поискового аналитического способа, который измеряет BMS-986016 для целей поисковой технологии; о поисковых данных не будут сообщать.

Оценки поисковых биомаркеров

Опухолевую ткань, костный мозг и/или аспират будут собирать до начала лечения и в отдельных временных точках при лечении у всех субъектов в Частях А и В. Периферическую кровь будут собирать до начала лечения и в отдельные временные точки при лечении у первых 3-х субъектов, зачисленных в каждый уровень дозы в Части А и у всех субъектов в Части В. Если образцы биомаркеров вовлекаются, но исследуемое лекарственное средство не вводят, образцы будут сохранены. График проведения фармакодинамических оценок представлен на фиг. 3.

Растворимые биомаркеры

Растворимые факторы, такие как цитокины, хемокины, растворимые рецепторы и антитела к опухолевым антигенам, будут охарактеризованы и количественно определены с помощью иммунологического анализа в сыворотке. Анализы могут включать в себя, но не обязательно ограничиваться ими, растворимый CD25, растворимый PD-1, растворимый LAG-3 и CXCL-9. Собранные образцы сыворотки будут также использоваться для оценки опухолевых антигенспецифических ответов, вызванных последующим лечением монотерапией, чтобы исследовать, какие противоопухолевые антитела наиболее связаны с клиническим ответом. Уровни антител к исследуемым антигенам злокачественных опухолей будут оценены с помощью мультиплексных анализов и ELISA.

Имунофенотипирование PBMC и аспиратов костного мозга

Долю специфических субпопуляций лимфоцитов и уровни экспрессии Т-клеточных костимулирующих маркеров в препаратах PBMC будут количественно определять с помощью проточной цитометрии. Анализы могут включать в себя, но не обязательно с ограничением, долю Т-, В- и NK-клеток, долю субпопуляций Т-клеток памяти и эффекторных Т-клеток, а также уровни экспрессии LAG-3, PD-1, PD-L1, PD-L2, ICOS и Ki67.

Функциональные анализы ex vivo

Для того, чтобы исследовать, будет ли ниволумаб восстанавливать активацию и функцию Т-клеток, будут выделены и криоконсервированы РВМС. Будут выполнены анализы функционального состояния эффекторных Т-клеток, включая в себя без ограничения анализы на интерферон-гамма (IFN- γ) и CD107.

Экспрессия генов периферической крови

Уровень экспрессии генов, связанных с ответом на BMS-986016, будет количественно определяться с использованием молекулярных способов, таких как микроматрица Affymetrix и/или количественный анализ ОТ-ПЦР в образцах цельной крови. Анализ может включать в себя, но не обязательно с ограничением, гены, связанные с иммунносвязанными путями, такими как активация Т-клеток и процессинг и презентация антигена.

Занятость рецепторов BMS-986016

Процент BMS-986016, связанных с иммунными клетками, а также средняя интенсивность флуоресценции (MFI) связанного лекарственного средства, будет количественно определяться с помощью основанного на проточной цитометрии анализа занятости рецептора. Этот анализ будет проводиться на периферической крови и, где это возможно, аспирате костного мозга. Анализ занятости рецептора будет предоставлять данные для определения количества и типа Т-клеток, с которыми взаимодействует лекарственное средство в различных биологических компартментах. Образцы будут брать до воздействия для определения исходного уровня и во время сбора аспирата костного мозга. Анализ периферической крови и аспириатов костного мозга будет проводиться в свежих образцах; поэтому, очень важно, чтобы образцы были отправлены сразу же после сбора.

Анализ репертуара Т-клеток

Было показано низкое разнообразие периферического компартмента Т-клеток, которое коррелирует с плохой общей выживаемостью при метастатической злокачественной опухоли молочной железы (Manuel et al., Oncoimmunology 2012;1(4):432-440). Теория непрерывности в иммуноонкологии предполагает, что разнообразная и активируемая иммунная среда лучше адаптируется к ликвидации опухоли, по сравнению с перекошенным репертуаром наивных и толеризованных Т-клеток. Для того чтобы выяснить, прогнозируемо ли разнообразный Т-клеточный репертуар отвечает на терапию, секвенирование ДНК следующего поколения с высокой пропускной способностью будут проводить на ДНК, выделенной из периферической крови и опухолевой ткани, чтобы количественно оценить состав Т-клеточного репертуара до и во время монотерапии.

Анализ SNP

Для того чтобы выявить потенциальные полиморфизмы, связанные с безопасностью и эффективностью BMS-986016, выбранные гены будут оценивать на наличие однонуклеотидных полиморфизмов (SNP). Анализ будет ограничен полиморфизмами последовательностей, связанными с генами и путями, ассоциированными с PD-1/PD-L1, LAG-3, и активированным Т-клеточным фенотипом, включая в себя PD-1, PD-L1, PD-L2, LAG-3, MHC II и CTLA-4.

Основанные на опухолях измерения биомаркеров

Образцы биопсии опухоли (например, первичной опухоли, лимфатического узла) будут получать до и после лечения с BMS-986016 для характеристики популяции иммунных клеток и экспрессии отдельных опухолевых маркеров.

Биопсию опухоли до предварительного воздействия (например, первичной опухоли, лимфатического узла) будут собирать у всех взрослых людей. Если биопсия опухоли до предварительного воздействия не представляет собой клинически осуществимую, архивный образец опухолевой ткани (например, первичной опухоли, лимфатического узла и т.д.), либо фиксированный формалином заключенный в парафин (FFPE) блок, либо неокрашенные срезы, должны быть предусмотрены для выполнения корреляционных исследований. Гистологический отчет должен быть представлен с архивированным образцом или свежей биопсией. Если доступны как свежая биопсия, так и архивный образец, должны быть отправлены оба образца.

Опухолевые биопсии во время лечения не представляют собой обязательные и будут собраны у пациентов, у которых была биопсия этапе включения. Биопсия может быть получена в течение 50-56 дня цикла 1 (или ранее при клинических показаниях) и снова на PD. Биопсия может быть согласована с предписанной протоколом диагностической визуализацией.

Односторонняя биопсия и/или аспират костного мозга будет сделана на этапе включения или вплоть до 28 суток перед первой дозой исследуемого лекарственного средства у всех субъектов. Субъекты, у которых были результаты аспирации и биопсии костного мозга с завершения их последней терапии, могут не использовать эти результаты костного мозга вместо исходного костного мозга, необходимого для данного исследования. Во время лечения образцы аспирата и/или биопсии костного мозга будут получены при CR, PR или при PD, при наличии клинических показаний, и могут быть согласованы с предписанной протоколом диагностической визуализацией.

Биопсия и образцы костного мозга могут быть использованы для следующих оценок:

Характеристика проникающих в опухоли лимфоцитов (TIL), опухолевых антигенов и вирусной позитивности

Иммуногистохимия (ИНС) будет использоваться для оценки количества и состава иммунных инфильтратов с целью определения субпопуляций иммунных клеток, присутствующих в FFPE опухолевой ткани до и после воздействия терапией. Эти анализы ИНС будут включать в себя, но не обязательно ограничиваться ими, следующие маркеры: CD4, CD8, FOXP3, PD-1, LAG-3 и МНС II. Состояние вируса Эпштейна-Барра (EBV) опухоли также может быть определено путем оценки кодирующей EBV РНК, экспрессии LMP-1 или подобных анализов. Например, анализы ИНС для человеческого LAG-3 проводили на миндалине человека и клетках NHL в соответствии со следующим протоколом, и эти результаты показаны на фиг. 4-14В:

Оборудование и материалы:

Автостейнер Leica
 Автостейнер BioGenex i6000
 Камера депарафинизации и демаскировки антигенов BioCare Medical Decloaking Chamber™ Plus

Реагенты:

Ксилен® (EM Science, № в каталоге UN1307)
 Этанол (AAPER alcohol and Chemical Co)
 AR10 (BioGenex®, № в каталоге НК057-5К)
 Промывочный буфер (DAKO®, № в каталоге S3006)
 Пероксидазный блок (Leica®, № в каталоге RE7101-CE)
 Белковый блок (Leica®, № в каталоге RE7102-CE)
 Разбавитель антител (BioGenex®, № в каталоге НК156-5К)
 DAB (Leica®, № в каталоге RE7190-CE)
 Гематоксилин (Dako®, № в каталоге S3309)
 Антитела:

LAG-1, Ms Mab	Lifespan®	LS-C18692	5 мкг/мл
Ms IgG1	R&D®	MAB002	5 мкг/мл

Система визуализации на основе полимера Novolink Max Polymer Detection System® (Leica®, № в каталоге RE7260-CE)

Процедура:

1. Депарафинизацию и регидратацию проводили на автостейнере Leica с использованием ксилола (2 раза, в течение 5 минут каждая), 100% этанола (2 раза, в течение 2-х минут каждая), 95% этанола (2 раза, в течение 2-х минут каждая), 70% этанола (2 раза, в течение 2-х минут каждая), дистиллированной воды (dH₂O.) (в течение 2-х минут);
2. Демаскировку антигена осуществляли с использованием Biocare Medical Decloaking Chamber Plus®. Раствор AR10 нагревали до 105°C (P1) в течение 20

минут, а затем переходили к следующей стадии (P2 FAN ON при 95°C; FAN OFF при 90°C);

3. Срезы охлаждали при комнатной температуре в течение 15 мин, промывали водой (приблизительно в течение 1 минуты);
4. Реагенты ИНС устанавливали на автостейнер i6000;
5. Срезы устанавливали на автостейнер i6000, используя мазок, чтобы определить область ткани; а также
6. ИНС проводили с автостейнером BioGenex i6000 с использованием режима исследований следующим образом.

Стадии ИНС на i6000 (набор NovoLink):

1. Применяли "пероксидазный блок" (набор NovoLink) в течение 10 минут с последующим промыванием с промывочным буфером для ИНС (3 раза);
2. Белковый блок (набор NovoLink) наносили на срезы и инкубировали в течение 10 минут при комнатной температуре, а затем промывали буфером (3 раза);
3. Антитела применяли к срезам и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре, и промывали буферным раствором (3 раза);
4. "Послепервичный блок" (набор NovoLink) добавляли к срезам и инкубировали в течение 30 минут, и промывали буфером (3 раза);
5. "Полимер NovoLink" (набор NovoLink) добавляли к срезам и инкубировали в течение 45 минут;
6. Срезы промывали промывочным буфером для ИНС (3 раза);
7. Добавляли хромогеновые субстраты DAB (набор NovoLink) и проявляли в течение 5 минут;
8. Срезы промывали промывочным раствором с dH₂O 5 раз при комнатной температуре;
9. Срезы контрастно окрашивали гематоксилином (Dako) 1:1 в течение 1 минуты при комнатной температуре;
10. Срезы затем промывали промывочным раствором с dH₂O (5 раз при комнатной температуре).

Дегидратация и заклеивание препаратов покровным стеклом:

1. Слайды удаляли из автостейнера i6000 и устанавливали на автостейнер Leica;
2. Срезы дегидратировали 70% этанолом, 95% этанолом, 2x100% этанолом (по 2 минуты);
3. Срезы промывали ксилолом (2 раза по 2 минуты каждый); а также
4. Заклеивали покровным стеклом с заливочной средой Cytoseal в приспособлении для заклеивания препаратов покровным стеклом Leica CM5030.

Вирусная нагрузка в сыворотке

Статус вирусной нагрузки вируса Эпштейна-Барра (EBV) и цитомегаловируса (CMV) будет оцениваться в сыворотке с помощью (ПЦР) в различные моменты времени. Вирусную нагрузку будут затем коррелировать с клиническими результатами и экспрессией таких маркеров, как CD4, CD8, FOXP3, PD-1, LAG-3 и МНС II в опухолевой ткани.

Характеристика Т-клеточного репертуара

Как было описано выше, секвенирование ДНК будут выполнять на опухолевой ткани до и после лечения с целью оценки состава Т-клеточного репертуара. ДНК будут выделять либо из FFPE опухолевого блока, либо из RNAlater или эквивалентных препаратов.

Анализ профиля экспрессии генов

Опухолевые биопсии и образцы костного мозга, которые собирают в RNAlater или эквивалентном фиксаторе, будут исследовать на экспрессию гена мРНК с помощью технологии определения генетической информации Affymetrix и/или ОТ-ПЦР для обнаружения экспрессии выбранных иммунносвязанных генов.

Цитогенетика, мутации и онкомаркеры

Следующие анализы должны быть выполнены на этапе включения, если они не были сделали ранее:

Субъекты с лимфомой Ходжкина: амплификация 9p24.1, CD30

Субъекты с CLL: del 11q, del 13q, del 17p, статус IGHV, CD38 и β 2-микроглобулин

Субъекты с DLBCL: фенотип ABC, GCB или неклассифицируемые и β 2-микроглобулин.

Результаты этих клинических маркеров будут коррелировать как с клиническими результатами, так и истощенным фенотипом в Т-клетках.

Сбор опухолевых образцов

1. Биопсия (первичной опухоли и/или лимфатического узла)

Минимум 1 FFPE блок опухолевой ткани (предпочтительно) или минимум 10 неокрашенных FFPE срезов необходимы для оценки статуса LAG-3, EBER-ISH и оценок других биомаркеров. Опухолевые биопсии в формалине также могут быть приняты, если FFPE нет в наличии.

Биопсийные образцы должны быть эксцизионными, инцизионными или быть получены иглой для кор-биопсии. Тонкоигольные аспираты или другие цитологические образцы допускаются только после обсуждения с медицинским наблюдателем спонсора.

Рекомендуется, чтобы образцы фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине в течение от 24 до 48 часов.

Если предусмотрены срезы, рекомендуемая толщина среза ткани составляет 4 мкм, и срезы должны быть положительно заряженными. Срезы должны быть отправлены в холодильник с температурой 2-8°C.

Если взята свежая биопсия, рекомендуется использовать до 4-х кор-биопсий. Настоятельно рекомендуется оценка качества биопсии патологоанатомом во время процедуры. Опухолевая ткань, которую получают из этих биопсий, будут разделять поровну на образцы FFPE и RNAlater.

Исследователь, в консультации с персоналом радиологии, должен определить степень риска, связанного с процедурой, и найти его приемлемым. Биопсия может быть сделана под местной анестезией или под общим наркозом. Должны быть соблюдены институциональные принципы для безопасного выполнения биопсий. Могут быть выполнены эксцизионные биопсии, чтобы получить образцы опухолевой биопсии. Инвазивные процедуры, которые требуют общей анестезии, не следует проводить для получения образца биопсии. Однако, если хирургическая процедура выполняется по клиническим показаниям, избыток ткани опухоли может быть использован для целей исследования с согласия субъекта.

2. Костный мозг и/или аспираты

Биопсия и/или аспираты костного мозга, полученные на этапе включения, при CR или PR и при прогрессировании, будут использоваться для оценки фенотипического и функционального состояния иммунокомпетентных клеток и опухолевых клеток.

Биопсия костного мозга и/или аспираты будут получены с использованием институциональных стандартов для этих процедур. Будут предоставлены подробные инструкции для биопсии костного мозга и сбора аспирата в Руководстве по лабораторным процедурам. Вкратце, необходимы минимум 1 FFPE блок опухолевой ткани (предпочтительно) или минимум 10 FFPE неокрашенных срезов костного мозга, и приблизительно 10 мл аспирата будут собирать в пробирки с гепарином натрия и поставлять в незамороженном виде. С образцом биопсии должен быть представлен гистологический отчет.

Нежелательные явления

Нежелательное явление (АЕ) определяется как любое новое неблагоприятное медицинское возникновение или обострение уже существующего медицинского состояния у клинически исследуемого субъекта, которому вводят исследуемый (лекарственный) продукт и который не обязательно имеет причинную связь с этим лечением. Поэтому АЕ представляет собой любой неблагоприятный и непреднамеренный признак (например, ненормальное лабораторное обнаружение), симптом или заболевание, совпадающее по времени с использованием исследуемого продукта, независимо от того, считается ли он связанным с исследуемым продуктом или нет.

Причинная взаимосвязь с исследуемым лекарственным средством определяется врачом и используется для оценки всех нежелательных явлений (АЕ). Причинная взаимосвязь может представлять собой одну из следующих:

Связаны: Существует обоснованная причинная взаимосвязь между введением исследуемого лекарственного средства и АЕ.

Не связаны: Отсутствует обоснованная причинная взаимосвязь между введением исследуемого лекарственного средства и АЕ.

1. Серьезные нежелательные явления

Серьезное нежелательное явление (SAE) представляет собой любое неблагоприятное медицинское событие, которое в любой дозе:

- приводит к смерти;
- представляет собой опасное для жизни (определяется как явление, в котором субъект находится под угрозой смерти в момент явления, оно не относится к явлению, которое гипотетически могло бы вызвать смерть, если бы оно было более серьезным);
- требует стационарной госпитализации или вызывает продление существующей госпитализации;
- приводит к стойкой или значительной инвалидности/нетрудоспособности;
- представляет собой врожденную аномалию/врожденный дефект;
- представляет собой важное медицинское явление (определяется как медицинское явление(я), которое может не быть немедленно угрожающим жизни или приводить к смерти или госпитализации, но, основываясь на соответствующей медицинской и научной оценке, может ставить под угрозу субъекта или может потребовать вмешательства (например, медицинского, хирургического), чтобы предотвратить один из других серьезных результатов, перечисленных в определении выше). Примеры таких явлений включают в себя без ограничения интенсивное лечение в отделении неотложной помощи или в домашних условиях от аллергического бронхоспазма; патологические изменения крови или конвульсии, которые не приводят к госпитализации.) Потенциальное лекарственное средство, индуцирующее поражение печени (DILI), также считается важным медицинским явлением.

Подозреваемая передача инфекционного агента (например, патогенного или непатогенного) посредством исследуемого лекарственного средства, представляет собой SAE. Хотя беременность, передозировка, злокачественная опухоль и индуцированное потенциальным лекарственным средством поражение печени (DILI) не всегда представляют собой серьезные по регламентирующему определению, эти явления должны

быть обработаны как SAE. О любом компоненте исследовательского конечного критерия оценивания, который считается связанным с исследуемой терапией (например, смерть представляет собой конечный критерий оценивания, если смерть произошла из-за анафилаксии, об анафилаксии необходимо сообщать), сообщают как о SAE.

Следующие случаи госпитализации не считаются SAE:

- визит в отделение неотложной помощи или другой отдел больницы < 24 часов, который не приводит к госпитализации (за исключение рассмотренного важного медицинского или опасного для жизни явления);

- плановая операция, запланированная до подписания согласия;

- госпитализации согласно протоколу для плановой медицинской/хирургической процедуры;

- процедура оценки состояния здоровья, требующая госпитализации для исходного/актуального состояния здоровья (например, процедура колоноскопии);

- медицинская/хирургическая госпитализация, отличная от таковой для улучшения плохого состояния здоровья и планируемая до включения в исследование. В этих случаях требуется соответствующая документация;

- госпитализация, необходимая по другим жизненным обстоятельствам, которая не имеет никакого отношения к состоянию здоровья и не требует никакого медицинского/хирургического вмешательства (например, отсутствие жилья, экономическая несостоятельность, отпуск ухаживающего персонала, семейные обстоятельства, административные причины).

После письменного согласия субъекта на участие в исследовании, собираются все SAE, связанные или не связанные с исследуемым лекарственным средством, включая в себя те, которые, как полагают, связаны с процедурами, предписанными протоколом. Собирают все SAE, которые происходят во время периода скрининга и в течение 135 дней после прекращения приема лекарственного средства. Если это применимо, собираются SAE, которые относятся к более поздней процедуре, предписанной протоколом (например, последующая биопсия кожи). Все SAE сопровождаются резолюцией или стабилизацией.

2. Несерьезные нежелательные явления

Несерьезное нежелательное явление представляет собой АЕ, которое не классифицируется как серьезное. Сбор информации по несерьезным АЕ начинается в начале введения исследуемого лекарственного средства и продолжается в течение 135 дней после прекращения приема лекарственного средства. Несерьезные АЕ сопровождаются резолюцией или стабилизацией или о них сообщают как о SAE, если они становятся

серьезными. Последующее врачебное наблюдение также требуется для несерьезных АЕ, которые вызывают прерывание или прекращение исследуемого лекарственного средства, и для тех, которые присутствуют в конце исследуемого лечения в зависимости от обстоятельств. Все выявленные несерьезные АЕ записываются и описываются на странице CRF (бумажной или электронной) несерьезных АЕ.

Завершение дополнительных CRF запрашивается для АЕ и/или лабораторных аномалий, о которых сообщается/которые идентифицируют в ходе исследования.

Определение размера выборки

1. Часть А: эскалация дозы

Размер выборки для каждой дозы зависит от наблюдаемой токсичности и не может быть точно определен. Часть А будет содержать от 3 до 9 субъектов в каждой группе.

2. Часть В: расширение когорты

Размер выборки приблизительно 12 субъектов в когорте позволит лучше оценить степень токсичности и обеспечит большую точность оценок предварительной эффективности. Если 3 из 12 субъектов в когорте (т.е. < 30%) испытывают токсичность, существует по меньшей мере 90% уверенность в том, что истинный уровень токсичности не превышает 48% (основываясь на точном биномиальном 1-стороннем 90% доверительном интервале Клоппера-Пирсона). Кроме того, для сигнала безопасности, исследованного в когортах, если у 14 из 48 субъектов (т.е. < 30%) в части расширения исследования наблюдается токсичность, существует по меньшей мере 90% достоверность того, что истинный уровень токсичности не превышает 40%.

Размер выборки приблизительно 12 субъектов в когорте также позволяет оценивание доли субъектов с объективным ответом (т.е. полным ответом [CR] + частичным ответом [PR]) в когорте таким образом, что 2-сторонний 90% доверительный интервал для объективного процента ответа будет составлять от 7% до 53%, если у 3 субъектов (25%) был ответ, и от 12% до 61%, если у 4 субъектов (33%) был ответ. Кроме того, учитывая то, что истинный процент ответа составляет 15% или выше, существует более чем 86% шанс увидеть по меньшей мере один ответ в группе из 12 пациентов.

Популяции для анализов

- **Все включенные в исследование субъекты:** Все субъекты (включающие в себя отказы при скрининге), которые подписали информированное согласие на исследование.
- **Все получающие лечение субъекты:** Все субъекты, которые получают по меньшей мере одну полную или частичную дозу BMS-986016.

- **Субъекты, у которых оценивается ответ:** Все получающие лечение субъекты, которые характеризуются анализируемой исходной оценкой заболевания, а также одним из следующего: (1) по меньшей мере одна анализируемая оценка заболевания во время лечения, (2) клиническое прогрессирование или (3) смерть до первой оценки заболевания во время лечения.

- **Подлежащая фармакокинетическому анализу выборка:** Все получающие лечение субъекты, которые характеризуются адекватными РК данными, чтобы определить по меньшей мере один действительный параметр РК, который будет включен в сводные таблицы. Будут перечислены все доступные данные концентрации в сыворотке от получающих лечение субъектов.

- **Подлежащая анализу иммуногенности выборка:** Все субъекты, которые получают одну полную или частичную дозу BMS-986016, характеризуются наличием исходного уровня и по меньшей мере одного доступного образца иммуногенности после исходного, будут включены в сводные таблицы. Будут перечислены все доступные данные от получающих лечение субъектов.

- **Подлежащая фармакодинамическому анализу выборка:** Все получающие лечение субъекты, у которых есть по меньшей мере одно действительное измерение для конкретного биомаркера, будут включены в резюме и списки для этого биомаркера.

Конечные критерии оценки

1. Первичные конечные критерии оценки

Первичный конечный критерий оценки этой Фазы 1 исследования представляет собой безопасность, измеренную на уровне исследования по проценту АЕ, SAE, смертности и лабораторных аномалий, оцененных во время лечения и в течение 135 дней после последнего воздействия. Все субъекты, которые получают по меньшей мере одну дозу BMS-986016 или ниволумаба, будут проанализированы на безопасность.

2. Вторичные конечные критерии оценки

а. Фармакокинетика

РК соединения BMS-986016 будет оцениваться в качестве вторичной цели с использованием следующих конечных критериев оценки, полученных из концентрации в сыворотке по отношению к временным данным в различные моменты времени.

Подлежащие оценке параметры РК включают в себя:

C_{max}	Максимальная наблюдаемая концентрация в сыворотке
T_{max}	Время максимальной наблюдаемой концентрации в сыворотке крови
C_{trough}	Минимальная наблюдаемая концентрация в сыворотке
C_{eoinf}	Наблюдаемая в конце инфузии концентрация
C_{tau}	Концентрация в конце интервала дозирования (например, концентрации через 336 часов)
$C_{ss,avg}$	Средняя концентрация в течение интервала дозирования ($[AUC(TAU)/tau]$)
$AUC(TAU)$	Площадь под фармакокинетической кривой в одном интервале дозирования
CLT	Общий клиренс тела
V_{ss}	Объем распределения в равновесном состоянии
$T-HALF_{eff} AUC$	Эффективное полувыведение, которое объясняет степень наблюдаемого накопления AUC
$T-HALF_{eff} C_{max}$	Эффективное полувыведение, которое объясняет степень наблюдаемого накопления C_{max}
AI_{AUC}	Индекс накопления; отношение $AUC(TAU)$ в равновесном состоянии к $AUC(TAU)$ после первой дозы
$AI_{C_{max}}$	Индекс накопления C_{max} ; отношение C_{max} в равновесном состоянии к C_{max} после первой дозы
$AI_{C_{tau}}$	Индекс накопления C_{tau} ; отношение C_{tau} в равновесном состоянии к C_{tau} после первой дозы
$AI_{C_{eoinf}}$	Индекс накопления C_{eoinf} ; отношение C_{eoinf} в равновесном состоянии к C_{eoinf} после первой дозы
DF	Степень флуктуации или индекс флуктуации ($[C_{max} - C_{tau}]/C_{ss,avg}$)

Значения параметров PK отдельного субъекта получают с помощью некомпартментных способов по утвержденной программе анализа PK. Для анализа используют актуальное время.

b. Эффективность

Следующие вторичные конечные критерии оценки будут проанализированы для того, чтобы исследовать предварительную противоопухолевую активность BMS-986016:

- Частота объективных ответов (ORR), т.е. доля субъектов с лучшим общим ответом CR или PR.
- Продолжительность ответа (DOR) на основе существующих критериев, относящихся к каждому типу заболевания.
- Ориентировочная выживаемость без прогрессирования (PFSR) Landmark через 4, 6, 8 и 10 месяцев при лечении и через 30 дней после последней дозы будет оцениваться как поисковый конечный критерий оценивания.

3. Поисковые конечные критерии оценивания/биомаркеры

Конечные критерии оценивания биомаркеров из периферической крови могут включать в себя такие изменения, как содержание растворимых факторов, а также субпопуляции Т-клеток, характеризующиеся иммунофенотипированием в каждой запланированной временной точке. Конечные критерии оценивания биомаркеров из опухолевых биопсий могут включать в себя без ограничения такие измерения, как функциональное состояние и расположение лимфоцитов и гена 3 активации лимфоцитов (LAG-3), главного комплекса гистосовместимости (МНС) класса II, экспрессии рецептора запрограммированной гибели клеток 1 (PD-1) и лиганда рецептора запрограммированной гибели клеток 1 (PD-L1). Также могут быть предусмотрены измерения занятости рецепторов, охарактеризованные в периферической крови, костном мозге и лимфатическом узле (если таковые имеются).

Анализ

Если не указано иное, данные по безопасности из Частей А и В будут обобщены: 1) в целом по уровню дозы и по всем уровням дозы, а также 2) по уровню дозы и по всем уровням дозы в пределах каждого типа опухоли. Данные по эффективности будут обобщены по уровню дозы в пределах каждого типа опухоли.

1. Демографические и исходные характеристики

Частотные распределения по полу и расе будут сведены в таблицу. Сводная статистика по возрасту, массе тела, росту и индексу массы тела (ИМТ) будет сведена в таблицу.

2. Анализы эффективности

У пациентов с HL и NHL для оценки эффективности будут использованы Пересмотренные критерии ответа на злокачественную лимфому (Приложение 1). Для субъектов с CLL будут использованы рекомендации по диагностике и лечению хронического лимфоцитарного лейкоза.

Будут определяться индивидуальные BOR, ORR, DOR и PFSR в выбранных временных точках. Результаты BOR будут обобщены с использованием таблиц частот. ORR, ориентировочная PFSR (через 4, 6, 8 и 10 месяцев лечения и через 30 дней после последней дозы) и соответствующие доверительные интервалы будут рассчитываться для Части В и могут быть рассчитаны для Части А, что подтверждается данными. DOR и PFSR будут оценивать по типу опухоли с использованием методологии Каплана-Мейера. Дополнительные поисковые презентации эффективности могут включать в себя субъектов как в когорте эскалации дозы, так и в расширенной когорте, сгруппированным по типу

опухоли, лечению, предварительной подверженности иммунотерапии, или исходным опухолевым маркерам. Также будут построены графики индивидуальных изменений в бремени заболевания с течением времени. Индивидуальные изменения в опухолевых маркерах с течением времени могут быть представлены в графическом виде по уровню дозы в пределах некоторых типов заболеваний. В зависимости от цели анализа об эффективности можно сообщать либо для всех получающих лечение субъектов, либо субъектов, у которых оценивается ответ.

3. Анализы безопасности

Все пациенты, получающие терапию исследуемым лекарственным средством, будут включены в анализ конечных критериев оценки безопасности. Все записанные АЕ будут перечислены и сведены в таблицу по классу системного органа, предпочтительному термину, отношению к исследуемому лекарственному средству и лечению. Кодирование будет сделано в соответствии с самой последней версией MedDRA. Жизненно важные признаки и выбранные клинические результаты лабораторных испытаний будут перечислены и просуммированы по воздействию. Будут перечислены любые существенные физические результаты исследований, а также результаты клинических лабораторных анализов. Будут перечислены любые выявленные исследователем отклонения ЭКГ.

4. Фармакокинетические анализы

Параметры РК для BMS-986016 будут рассчитываться с использованием некомпартментного анализа. Сводная статистика будет сведена в таблицу для параметров РК для BMS-986016 путем обработки и изучения по дням/неделям. Чтобы описать зависимость от дозы BMS-986016, могут быть предусмотрены графики разброса C_{max} и AUC (TAU) в зависимости от дозы на каждый день измерений. Пропорциональность дозы BMS-986016 также может быть оценена на основе модели питания.

5. Анализы поисковых биомаркеров

Фармакодинамический эффект на TIL, MIP и другие ключевые опухолевые маркеры у субъектов, которые подвергаются биопсии, будут обобщены с использованием итоговой статистики и графиков. Кроме того, корреляция изменений TIL или MIP и экспрессии опухолевых маркеров с показателями маркеров периферической крови могут быть изучены в графическом виде, а также с использованием соответствующих способов моделирования в зависимости от наличия данных. Связи измерений биомаркеров из периферической крови или биопсии опухоли с клиническими результатами также могут быть изучены в графическом виде и в дальнейшем оценены при необходимости с помощью способов,

включающих в себя без ограничения логистическую регрессию, и охарактеризованы посредством соответствующей статистики.

6. Анализы иммуногенности

Будет предусмотрен список для всех имеющихся данных иммуногенности. Будет обобщено число и процент субъектов, которые отвечают указанным определениям конечных критериев оценки. Для изучения потенциальной взаимосвязи между иммуногенностью и безопасностью, сводная таблица частоты и типа представляющих особый интерес АЕ может быть изучена по статусу иммуногенности. Кроме того, также может быть изучена потенциальная связь между иммуногенностью и эффективностью, фармакодинамическими маркерами и/или РК.

СВОДНАЯ ТАБЛИЦА ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

SEQ ID NO:	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
1	<p>Аминокислотная последовательность тяжелой цепи моноклонального антитела к LAG-3 (BMS-986016) (вариабельная область подчеркнута, константная область выделена жирным шрифтом)</p> <p><u>QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTC</u>AVYGG<u>SFSDYYWNWIRQPPGKGLEWIGE</u> <u>INHRG</u>STNSNPSL<u>KSRVTL</u>SLD<u>TSKNQFSLK</u>LR<u>SVTAADTAVYYCAFGYS</u> <u>DYEYNW</u>FDPWG<u>QGLVTVSS</u>ASTK<u>GPSVFPL</u>APCS<u>RSTSE</u>STA<u>ALGCLVK</u> DYFPEP<u>VT</u>VS<u>WNSG</u>ALT<u>SGVHTFPA</u>VLQSS<u>GLYSLSSV</u>TV<u>VPSS</u>LG<u>TKT</u> YTCN<u>VD</u>HK<u>PSNTK</u>V<u>DKR</u>VE<u>SKY</u>GPC<u>PPCP</u>AP<u>EFLGG<u>PSVFL</u>FPP<u>KPKDT</u> LMIS<u>RTPE</u>VT<u>CVVVD</u>V<u>SQEDPE</u>VQ<u>FNWY</u>VDG<u>VEVH</u>NA<u>KT</u>KP<u>REE</u>Q<u>FN</u>STY RV<u>SV</u>LT<u>VLH</u>Q<u>DWL</u>NG<u>KEYK</u>CK<u>VSNK</u>GL<u>PSS</u>IE<u>KTISK</u>AK<u>GQ</u>PRE<u>PQ</u>V<u>YT</u> L<u>PP</u>S<u>QEEM</u>T<u>KNQ</u>V<u>SLT</u>CL<u>VKGF</u>Y<u>PSDIA</u>VE<u>WES</u>NG<u>Q</u>PEN</u>NY<u>KT</u>T<u>TP</u>V<u>LDS</u> D<u>G</u>S<u>F</u>F<u>L</u>S<u>R</u>L<u>T</u>V<u>D</u>KS<u>R</u>W<u>Q</u>E<u>G</u>N<u>V</u>F<u>S</u>C<u>S</u>VM<u>H</u>E<u>A</u>L<u>H</u>N<u>H</u>Y<u>T</u>Q<u>K</u>S<u>L</u>S<u>L</u>S<u>L</u>G<u>K</u>*</p>
2	<p>Аминокислотная последовательность легкой цепи моноклонального антитела к LAG-3 (BMS-986016) (вариабельная область подчеркнута, константная область выделена жирным шрифтом)</p> <p><u>EIVLTQSP</u>ATLSL<u>SPGER</u>ATL<u>SCR</u>ASQ<u>SISS</u>YL<u>AWYQ</u>Q<u>KPGQ</u>AP<u>RL</u>LI<u>YD</u> <u>ASNR</u>AT<u>GIPAR</u>F<u>SGSG</u>SG<u>TDF</u>TL<u>TIS</u>S<u>LE</u>P<u>ED</u>F<u>AVYY</u>C<u>Q</u>Q<u>R</u>S<u>N</u>W<u>PL</u>T<u>F</u>G<u>Q</u> <u>GTNLEIK</u>RT<u>V</u>A<u>AP</u>S<u>V</u>F<u>I</u>F<u>P</u>S<u>D</u>E<u>Q</u>L<u>K</u>S<u>G</u>T<u>A</u>S<u>V</u>VC<u>L</u>L<u>N</u>F<u>Y</u>P<u>R</u>E<u>A</u>KVQWKV D<u>N</u>AL<u>Q</u>S<u>G</u>N<u>S</u>QE<u>S</u>V<u>T</u>E<u>Q</u>D<u>S</u>KDS<u>T</u>S<u>L</u>S<u>S</u>T<u>L</u>T<u>L</u>SKA<u>D</u>YEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC*</p>
3	<p>Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) моноклонального антитела к LAG-3 (BMS-986016)</p> <p><u>QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTC</u>AVYGG<u>SFSDYYWNWIRQPPGKGLEWI</u> <u>GEINHRG</u>STNSNPSL<u>KSRVTL</u>SLD<u>TSKNQFSLK</u>LR<u>SVTAADTAVYYCAFG</u></p>

	YSDYEYNWFDPWGQGTLTVSS
4	<p>Нуклеотидная последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) моноклонального антитела к LAG-3 (BMS-986016)</p> <p>caggtgcagctacagcagtgggggcgcaggactgttgaagccttcggagaccct gtccctcacctgcgctgtctatggtgggtcctcagtgattactactggaact ggatccgccagccccaggggaaggggctggagtgattggggaatcaatcat cgtggaagcaccactccaaccctcaagagtcgagtcaccctatcact agacacgtccaagaaccagttctccctgaagctgaggtctgtgaccgccgagg acacggctgtgtattactgtgcgtttgatatagtgactacgagtacaactgg ttcgaaccctggggccagggaaaccctggtcaccgtctcctca</p>
5	<p>Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) моноклонального антитела к LAG-3 (BMS-986016)</p> <p>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD ASNRAITGIPARFSGSGSGTDFLTISLSEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQ GTNLEIK</p>
6	<p>Нуклеотидная последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) моноклонального антитела к LAG-3 (BMS-986016)</p> <p>gaaattgtgtgacacagctctccagccaccctgtctttgtctccaggggaaag agccaccctctcctgcagggccagtcagagtagtagcagctacttagcctggt accaacagaaacctggccaggtcccaggtcctcatctatgatgcatccaac agggccactggcatcccagccaggttcagtgagcagtgaggctctgggacagactt cactctcaccatcagcagcctagagcctgaagattttgcagtttattactgtc agcagcgtagcaactggcctctcacttttggccaggggaccaacctggagatc aaa</p>
7	<p>Аминокислотная последовательность CDR 1 тяжелой цепи моноклонального антитела к LAG-3 (BMS-986016)</p> <p>DYYWN</p>
8	<p>Аминокислотная последовательность CDR 2 тяжелой цепи моноклонального антитела к LAG-3 (BMS-986016)</p> <p>EINHRGSTNSNPSLKS</p>
9	<p>Аминокислотная последовательность CDR3 тяжелой цепи моноклонального антитела к LAG-3 (BMS-986016)</p> <p>GYSDYEYNWFDP</p>
10	<p>Аминокислотная последовательность CDR-1 легкой цепи моноклонального антитела к LAG-3 (BMS-986016)</p> <p>RASQSISSYLA</p>

11	<p>Аминокислотная последовательность CDR-2 легкой цепи моноклонального антитела к LAG-3 (BMS-986016)</p> <p>DASNRAT</p>
12	<p>Аминокислотная последовательность CDR3 легкой цепи моноклонального антитела к LAG-3 (BMS-986016)</p> <p>QQRSNWPLT</p>
13	<p>Аминокислотная последовательность LAG-3 человека</p> <p>MWEAQFLGLLFLQPLWVAPVKPLQPGAEVPVWVAQEGAPAQLPCSPITPLQD LSSLRRAGVTWQHQPDSGPPAAAPGHPLAPGPHPAAPSSWGPRPRRYTVLSVG PGGLRSGRLPLQPRVQLDERGRQRGDFSLWLRPARRADAGEYRAAVHLRDR ALSCRLRLRLGQASMTASPPGSLRASDWVILNCSFSRPDRPASVHWFRNRGQ GRVPVRESPIHHLAESFLFPQVSPMDSGPWGCILTYRDGFNVSIMYNLTVLG LEPPTPLTVYAGAGSRVGLPCRLPAGVGTRESFLTAKWTPPGGGPDLLVTGDN GDFTLRLEDVSAQAQAGTYTCHIHLEQQLNATVTLAIITVTPKSFSGPSLGLK LCEVTPVSGQERFVWSSLDTPSQRSFSGPWLEAQEAQLLSQPWQCQLYQGERL LGAAVYFTELSSPGAQRSGRAPGALPAGHLLLFLTLGVLSLLLLVTGAFGFHL W RRQWRPRRFSALEQGIHPPQAQSKIEELEQEPEPEPEPEPEPEPEPEPEQL*</p>
14	<p>Эпитоп LAG-3</p> <p>PGHPLAPG</p>
15	<p>Эпитоп LAG-3</p> <p>HPAAPSSW</p>
16	<p>Эпитоп LAG-3</p> <p>PAAPSSWG</p>
17	<p>Нуклеотидная последовательность тяжелой цепи моноклонального антитела к LAG-3 (BMS-986016)</p> <p>caggtgcagctacagcagtgggggcgcaggactgtgaagccttcggagaccctgtcct cacctgcgctgtctatggggccttcagtgattactactggaactggatccgccag ccccaggggaaggggctggagtggattggggaaatcaatcatcgtggaagcaccact ссаaccctgcctcaagagtcgagtcaccctatcactagacacgtccaagaaccagtt ctccctgaagctgaggtctgtgaccgccgcggacacggctgtgtattactgtgcgttg gatatagtgactacgagtaacaactggttcgaccctggggccagggaaacctggtcacc gtctcctcagctagcaccaggccatcctcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagccgcc ctgggctgctgtgcaaggactactccccgaaccggtgacggtgctggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgca acctccccggtgtcctacagtctcaggactctactccccagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagctgggcacgaa gacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagagagttgagtcctcaaatatggtccccatg cccacctgcccagcacctgagttcctggggggaccatcagctctctgttcccccaaaaccaaggacactctcatgatct</p>

	<p>cccgaccctgaggtcacgtgcgtggtggggacgtgagccaggaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggt ggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgaggagagcagttcaa cagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgaaggctc caacaaaggcctcccgtcctccatcgagaaaaccatctcaaagccaaagggcagccccgagagccacaggtgtacccc tgccccatcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcg ccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcctc ttctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggaggggaatgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctct gcacaaccactacacacagaagagcctctcctgtctctgggtaaatga</p>
18	<p>Нуклеотидная последовательность легкой цепи моноклонального антитела к LAG-3 (BMS-986016)</p> <p>gaaattgtgtgacacagtctccagccaccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccctctcctgcagggccagtcagag tattagcagctacttagcctggtaccaacagaaacct ggccaggctcccaggctcctcatctatgatgcatccaacagggccactggcatcccag ccaggttcagtggtcagtggtctgggacagacttcaactcaccatcagcagcctagagcctgaagatttgcagtttactg tcagcagcgtagcaactggcctctcacttttgccaggggaccaacctggagatcaaacgtacggtggctgcaccatctgtct tcatttcccgcctctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggcc aaagtacagtggaaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgacacagagcaggacagcaaggaca gcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaagtctacgcctgccaagtcacc catcagggcctgagctcgccgtcacaagagcttcaacaggggagagtgtag</p>

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

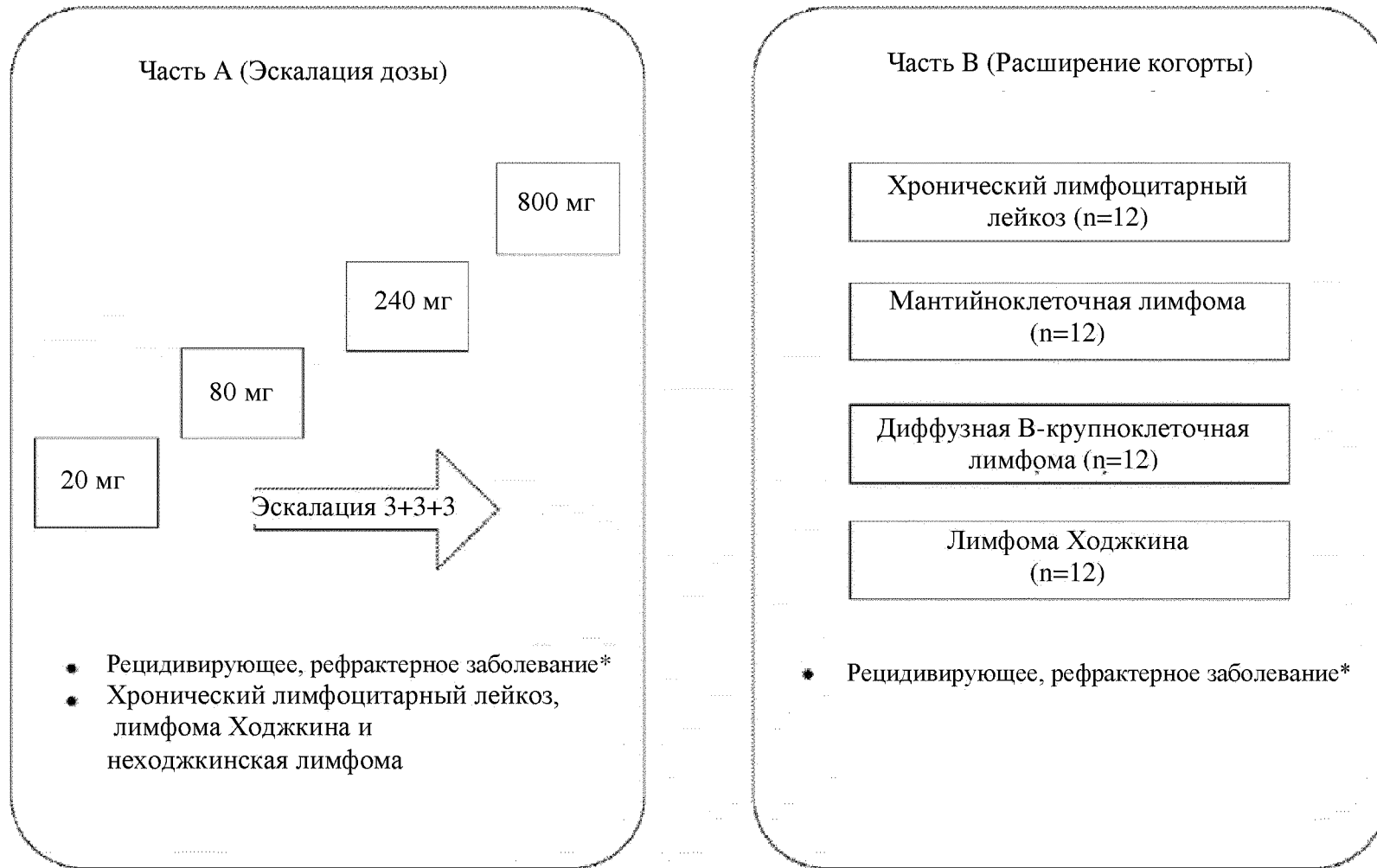
1. Способ лечения В-клеточной лимфомы у пациента-человека, предусматривающий введение пациенту эффективного количества антитела к LAG-3, содержащего переменную область тяжелой цепи, имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3, и переменную область легкой цепи имеющую последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5,

причем способ предусматривает по меньшей мере один цикл введения, где цикл представляет собой восьминедельный период, причем для каждого из по меньшей мере одного цикла антитело к LAG-3 вводят следующим образом:

- (a) четыре дозы по 20 мг антитела к LAG-3;
- (b) четыре дозы по 80 мг антитела к LAG-3;
- (c) четыре дозы по 240 мг антитела к LAG-3 или
- (d) четыре дозы по 800 мг антитела к LAG-3.

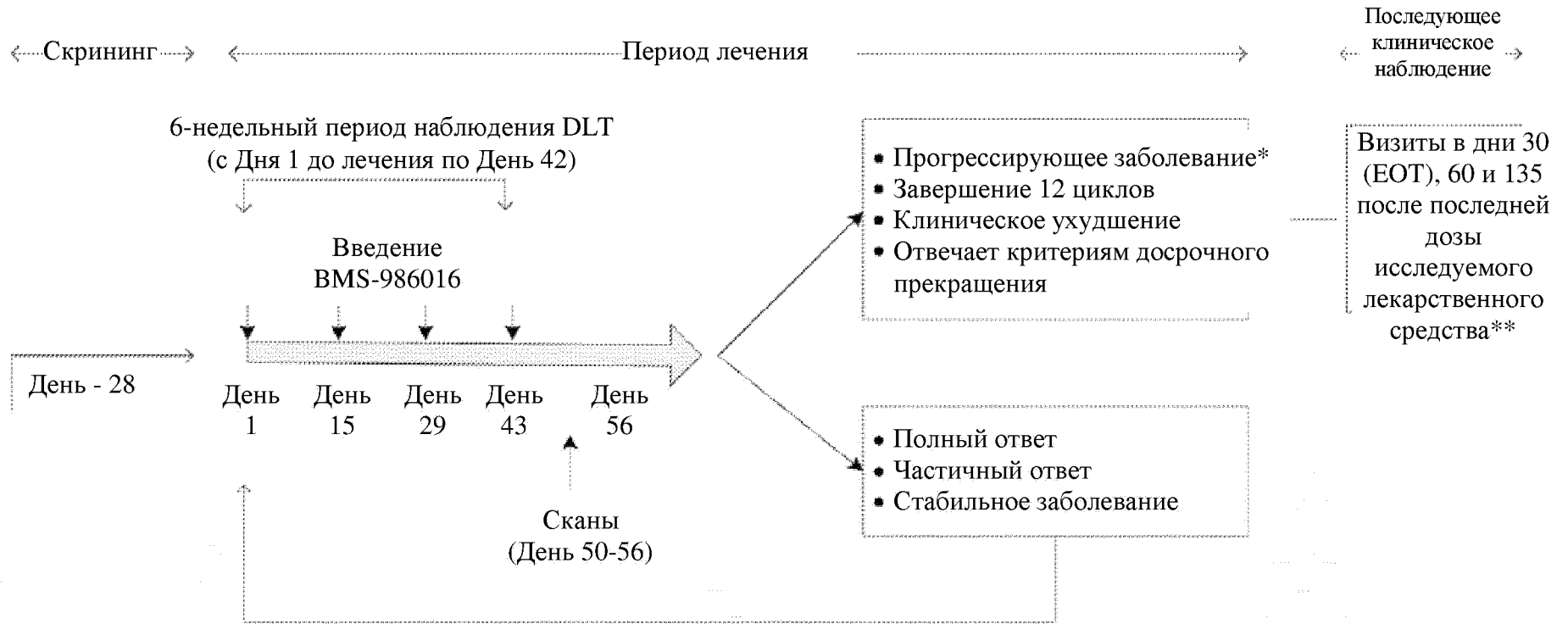
По доверенности

Схема дизайна исследования



Фиг. 1

Схема исследования для Частей А и В



* Лечение без прогрессирования может рассматриваться у выбранных субъектов, как описано в разделе 4.3.4

** У WOCBP будут дополнительные последующие оценки до Дня 165 в виде домашних тестов на беременность

Фиг. 2

Часть В – Порядок отбора образцов на биомаркер

Часть А: Первые 3 субъекта, включенные в исследование на каждый уровень дозы/Часть В: Все субъекты							Часть А и В: Все субъекты		
Время сбора	Сыворотка	РВМС			Цельная кровь		Опухоль		
День исследования	Растворимые биомаркеры (сывороточные биомаркеры)	Иммуно-фенотипирование/тетрамер (проточная цитометрия/РВМС)	Функциональный анализ ex vivo (клеточный анализ)	Занятость рецептора	Экспрессия гена (мРНК цельной крови)	SNP	Архивная ткань	Биопсия первичной опухоли/лимфатич. узла	Аспират/биопсия костного мозга (проточная цитометрия и занятость рецепторов)
Скрининг							X ^a	X ^a	X ^b
Цикл 1									
День 1	X	X	X	X	X	X			
День 15	X	X	X	X	X				
День 29	X	X	X	X	X				
День 43	X	X	X	X	X				
День 50-56								X ^c	
Цикл 2									
День 29	X	X	X		X				
Оценка CR				X					
При CR, PR или PD (как указано клинически)									
При PD	X	X	X		X			X ^c	X ^d
При CR, PR									X ^d

Примечание: У всех образцов должны быть представлены варианты до лечения

^a Будут собираться образцы биопсии до лечения (например, первичная опухоль, лимфатический узел). Если биопсия опухоли до лечения не представляет собой клинически осуществимую, архивный образец опухолевой ткани (например, первичной опухоли, лимфатического узла и т.д.) в виде либо фиксированного формалином заключенного в парафин (FFPE) блока, либо неокрашенных срезов (10), должны быть предусмотрены для всех субъектов. Если доступны как свежая биопсия, так и архивный образец, должны быть отправлены оба образца. С образцом должно быть предоставлено гистологическое заключение.

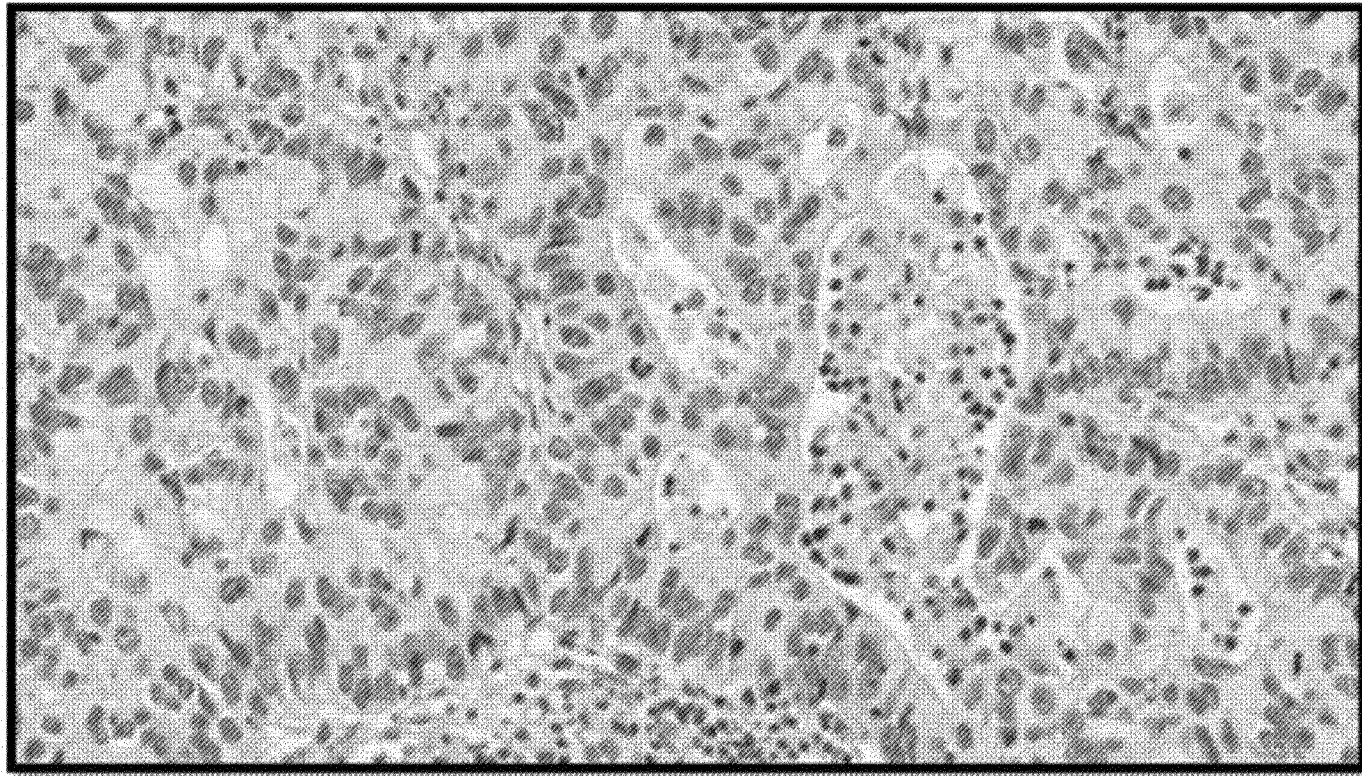
^b Односторонняя биопсия и/или аспират костного мозга будут сделаны до стадии включения или вплоть до 28 суток перед первой дозой исследуемых лекарственных средств у всех субъектов. С образцом должно быть предоставлено гистологическое заключение. Субъекты, у которых были результаты аспирации и биопсии костного мозга с завершения их последней терапии, не могут использовать эти результаты костного мозга вместо исходного костного мозга, необходимого для данного исследования.

^c Опухолевые биопсии во время лечения не обязательны. Необходимо получать биопсии у субъектов, у которых также есть биопсии до стадии включения. Биопсия может быть получена во время Цикла 1 в Дни 50-56 (или раньше при наличии клинических показаний) и снова при PD. Биопсия может быть скоординирована с установленной протоколом диагностической визуализацией.

^d Образцы биопсии и/или аспирата костного мозга при лечении будут получать при CR, PR или PD, при наличии клинических показаний, и могут быть скоординированы с установленной протоколом диагностической визуализацией.

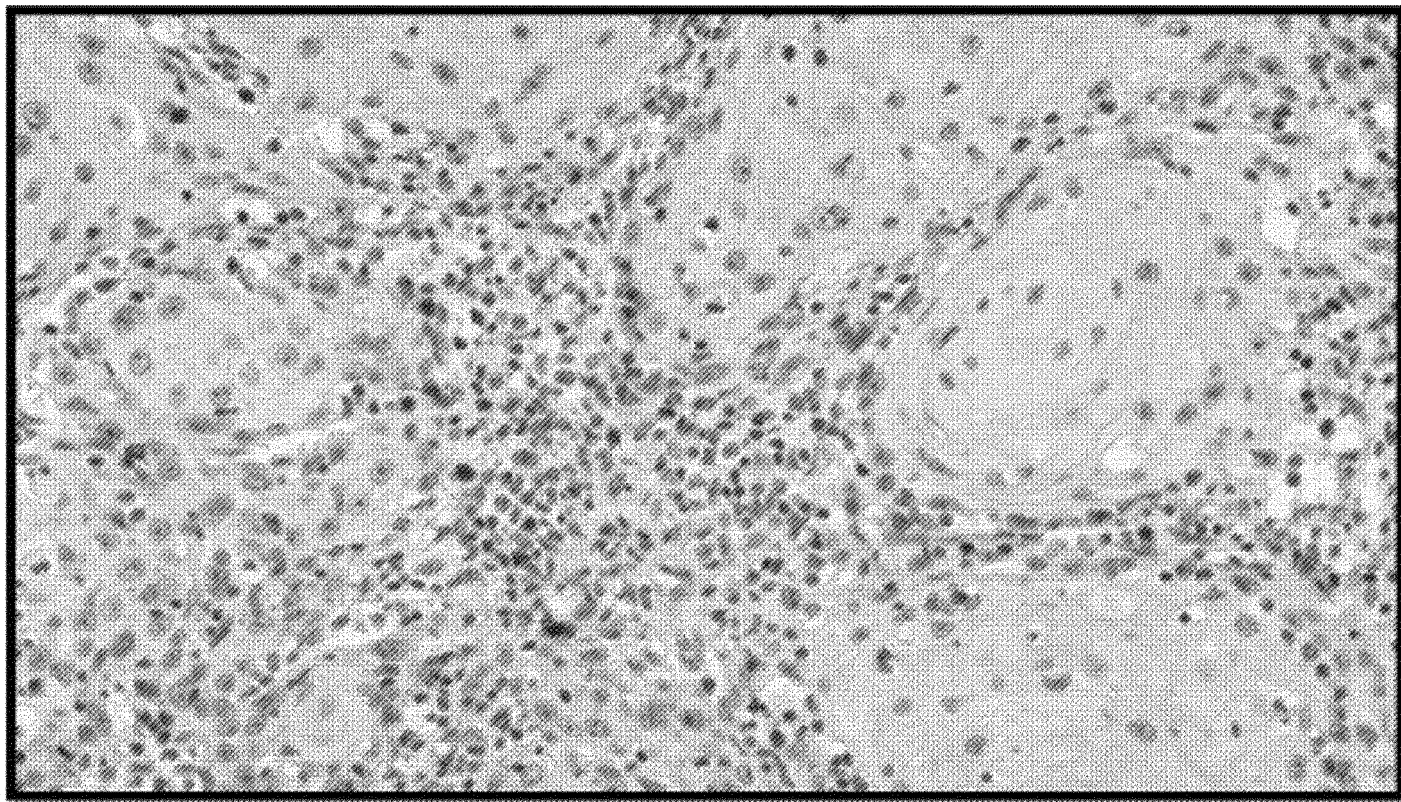
Фиг. 3

ИHC LAG3 при NSCLC #1080993B

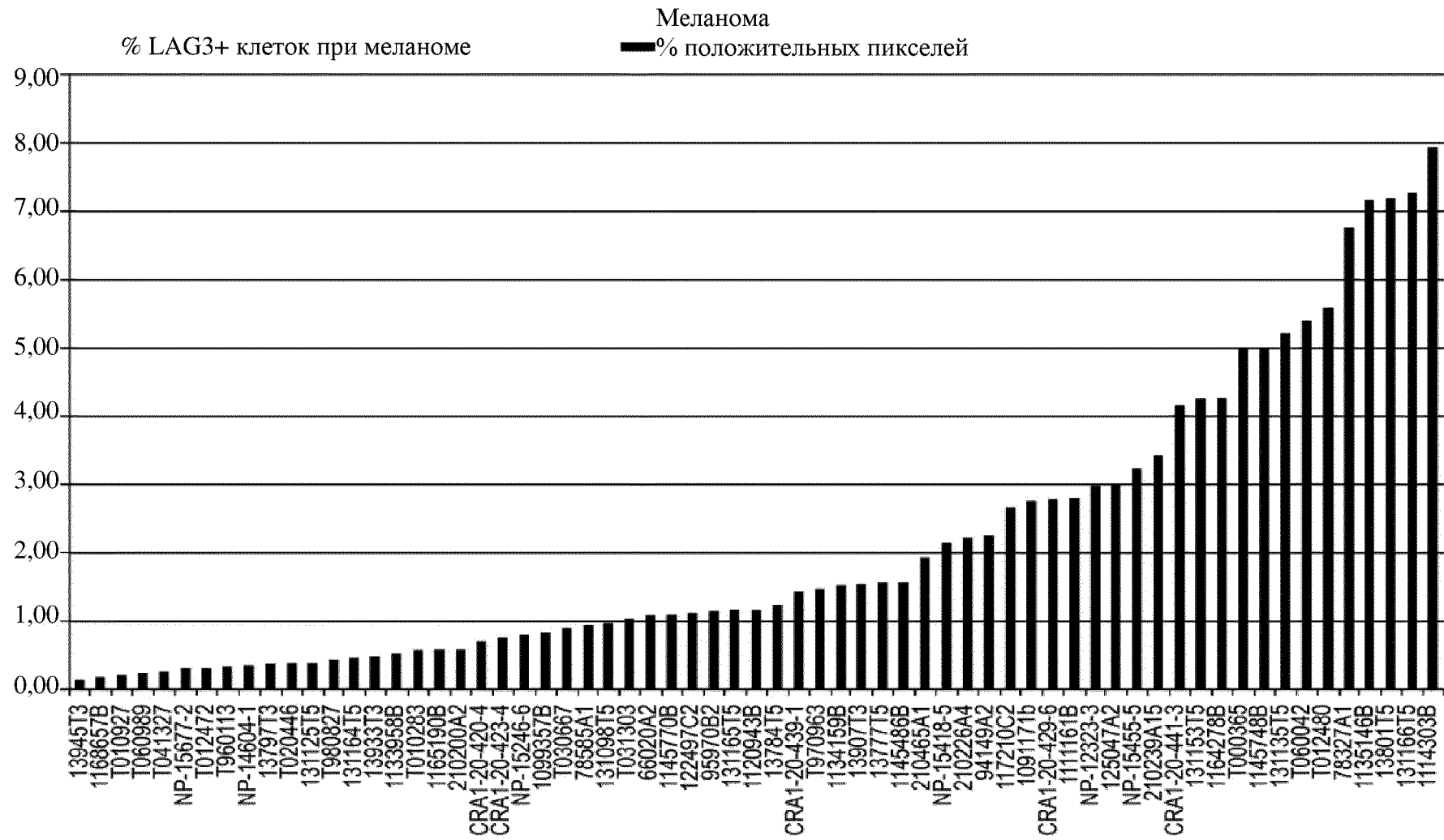


Фиг. 4

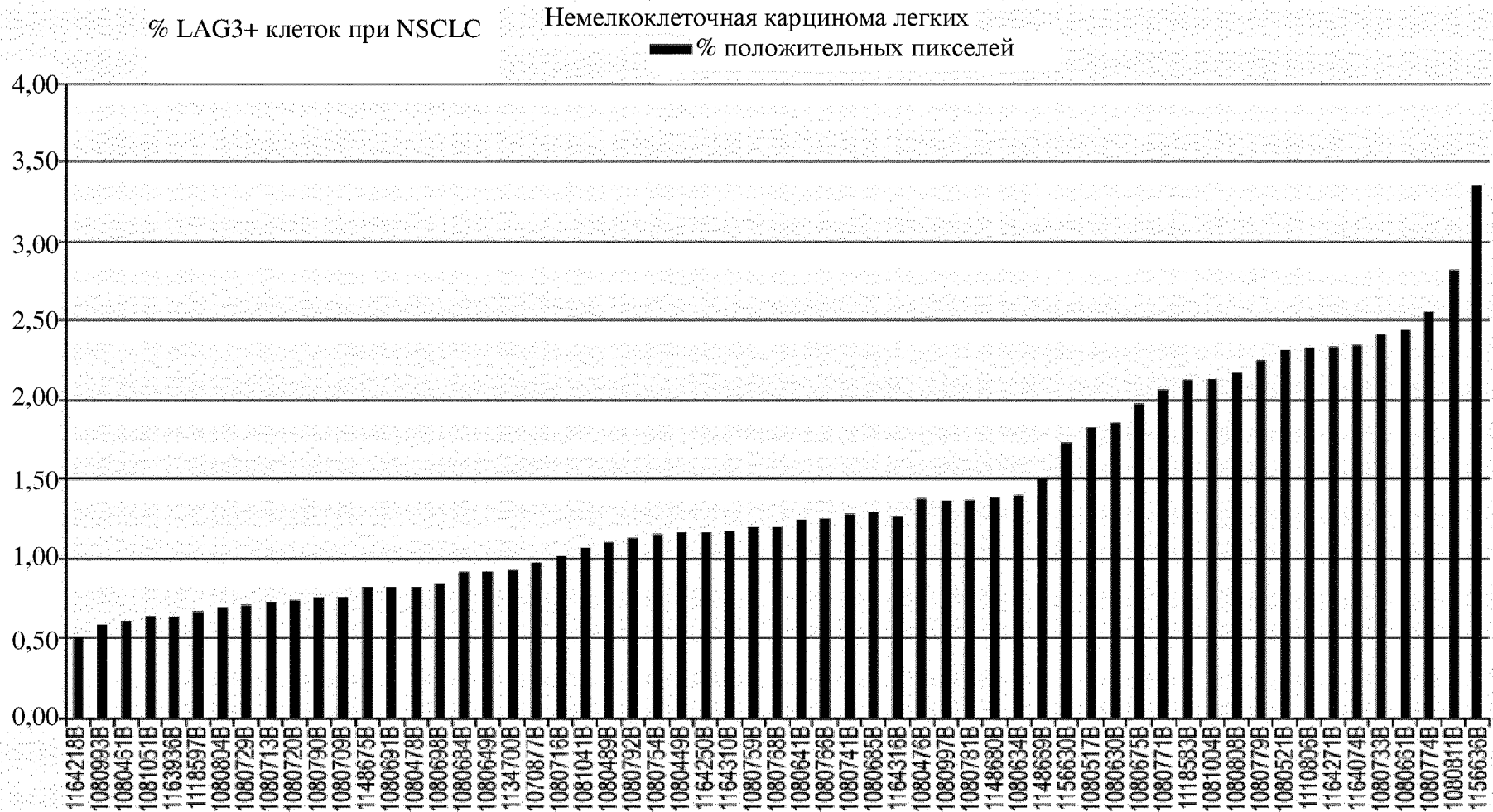
ИHC LAG3 при карциноме желудка #1142514



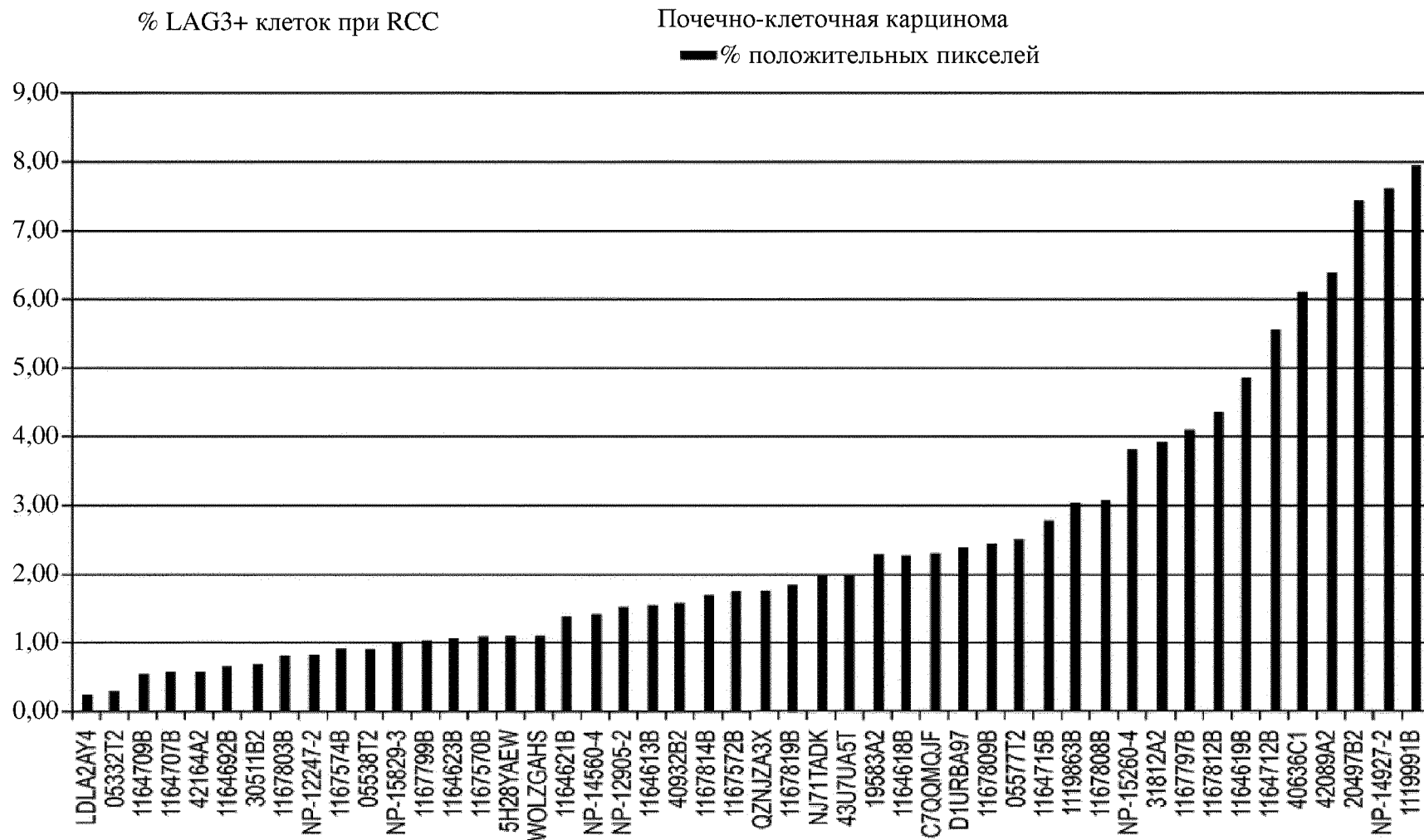
Фиг. 5



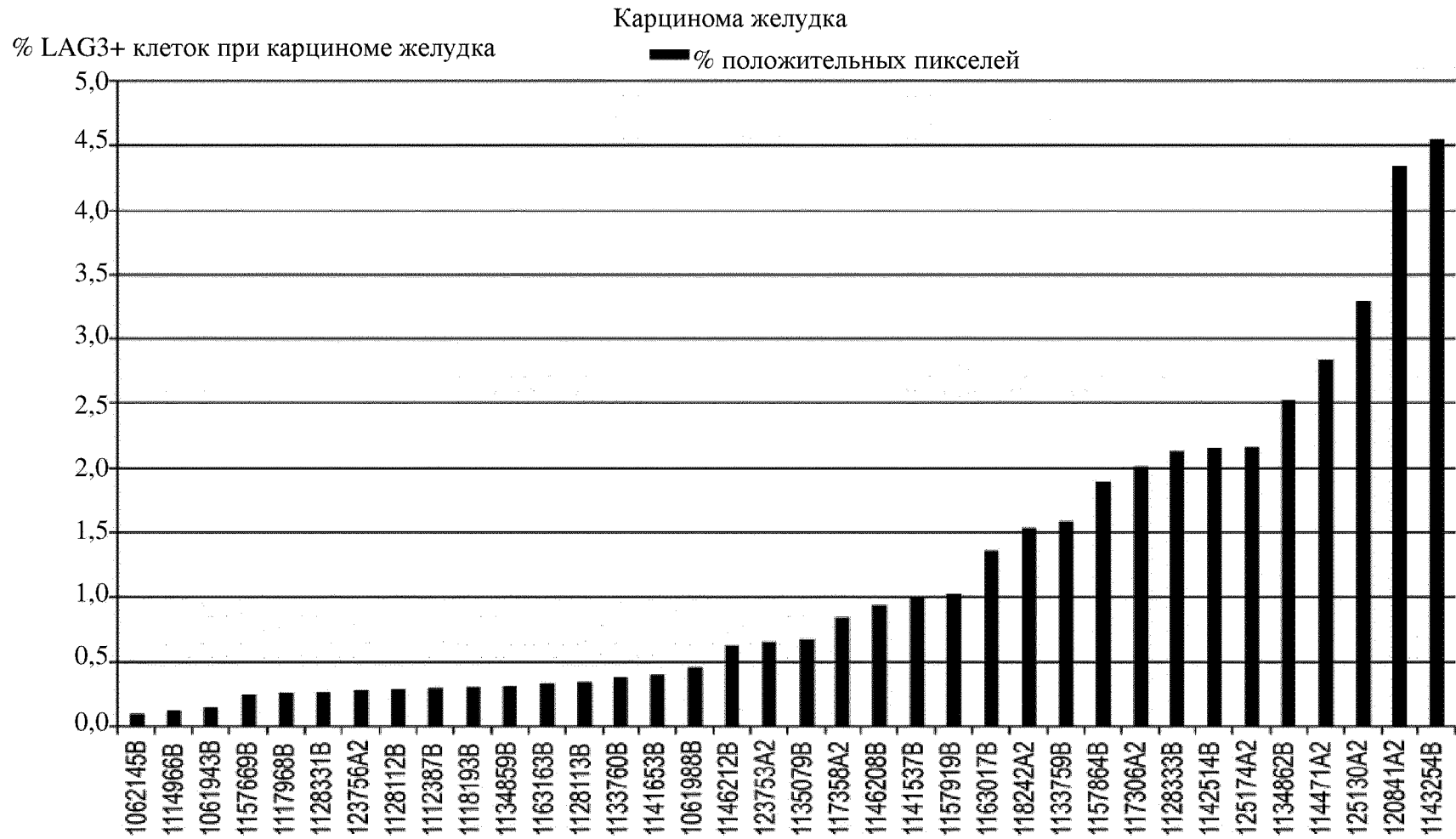
Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8

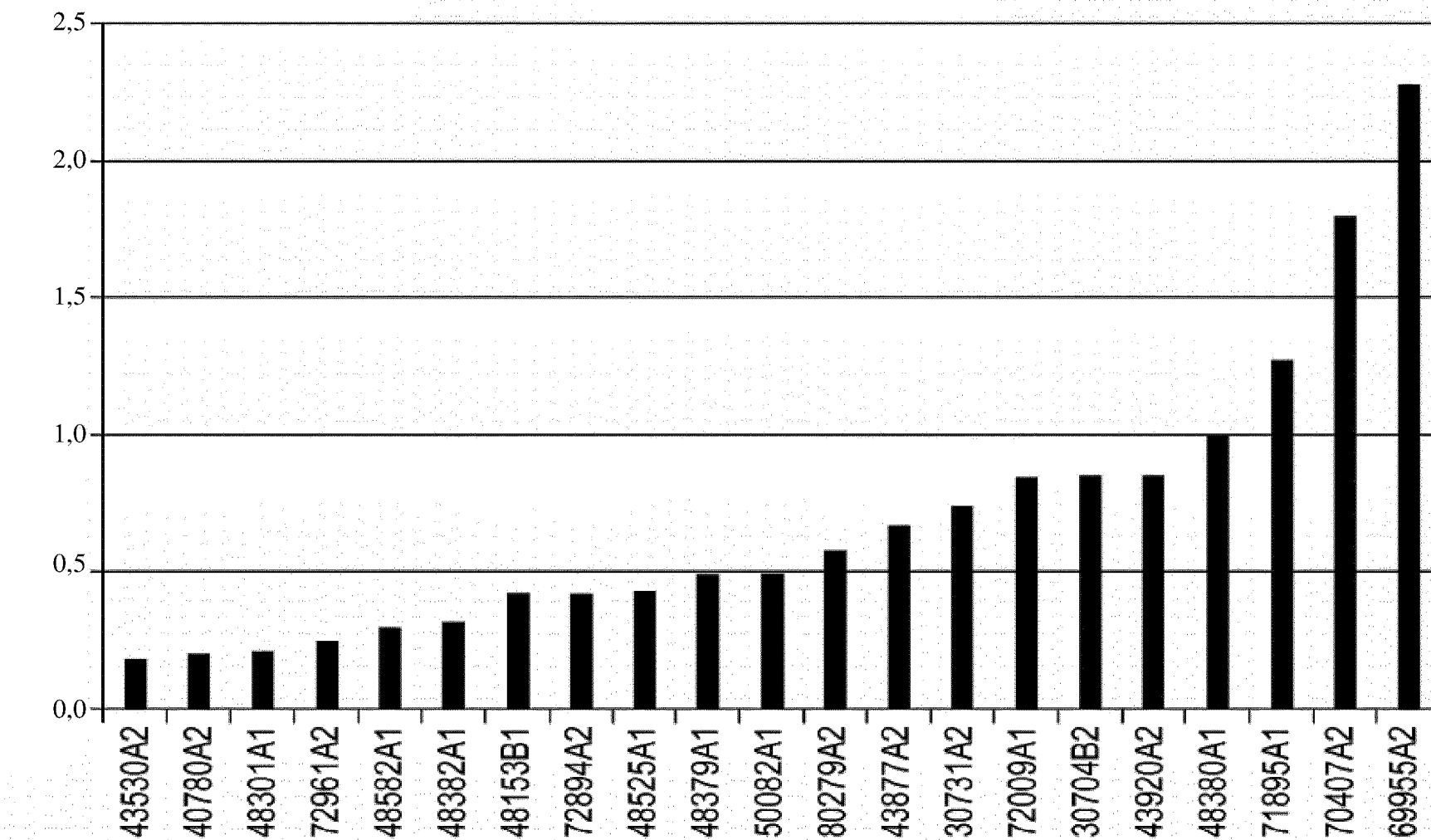


Фиг. 9

% LAG3+ клеток при плоскоклеточной
карциноме головы и шеи

Плоскоклеточные карциномы головы и шеи

■ % положительных пикселей



Фиг. 10

Анализ посредством световой микроскопии LAG3 при неходжкинской лимфоме

Процент LAG3-положительных клеток в лимфоидных клетках (опухолевые клетки и TIL)

Блоки NHL/ткани	Отрицат.	<1%	1-25%	25-50%	>50%	Все положит.
DLBCL	1	3	5	1	1	10/11
FL			4			4/4
BCL		1	3			4/4
ND		1	1			2/2
Доброкач. или TCL	2	2				2/4

NHL/TMA Tristar	Отрицат.	<1%	1-25%	25-50%	>50%	Все положит.
DLBCL	3	23	37		1	60/64
FL	3	7	7			14/17
CLL	4	3	4			7/11

Другой гем/TMA Tristar	Отрицат.	<1%	1-25%	25-50%	>50%	Все положит.
AML	14	2				2/16

ND = Не определено

BCL = В-клеточная лимфома

TCL = Т-клеточная лимфома

CLL = Хронический лимфоцитарный лейкоз

FL = Фолликулярная лимфома

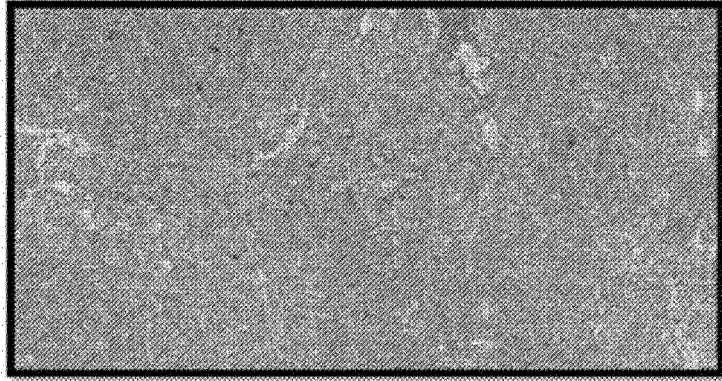
DLBCL = Диффузная В-крупноклеточная лимфома

AML = Острый миелоидный лейкоз

NHL	Интенсивность окрашивания РМ
DLBCL	0-3+
Фолликулярная лимфома	0-3+
В-клеточная лимфома	1-2+
CLL	0-2+
Не определено	1-2+
Доброкач. или Т-клеточная лимфома	0-1+

Фиг. 11

A



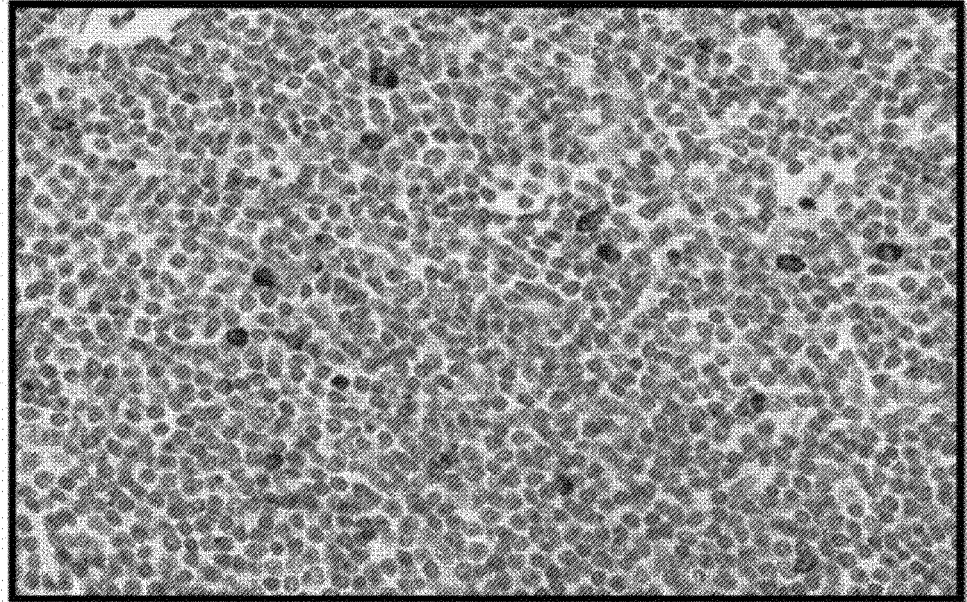
NHL, DLBCL #31292B2

Положительное окрашивание РМ предположительно злокачественных лимфоидных клеток (большие стрелки). Обратите внимание, что положительные клетки, похоже, характеризуются повышенным количеством цитоплазмы, по сравнению с нормальными лимфоцитами, и ядрами большего размера с вдавлениями. Подобное визуальному выделению гольджи окрашивание (маленькие стрелки)

А: Малое увеличение

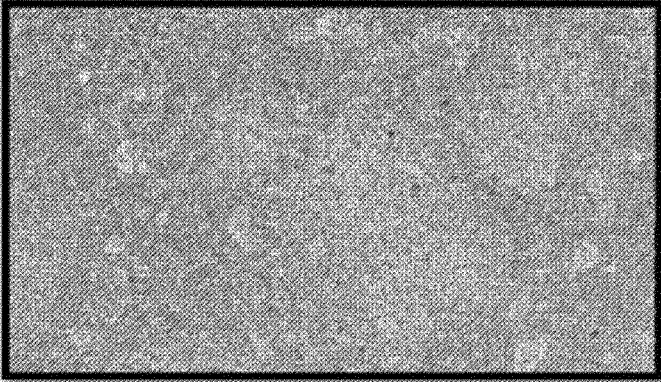
В: Большое увеличение

B



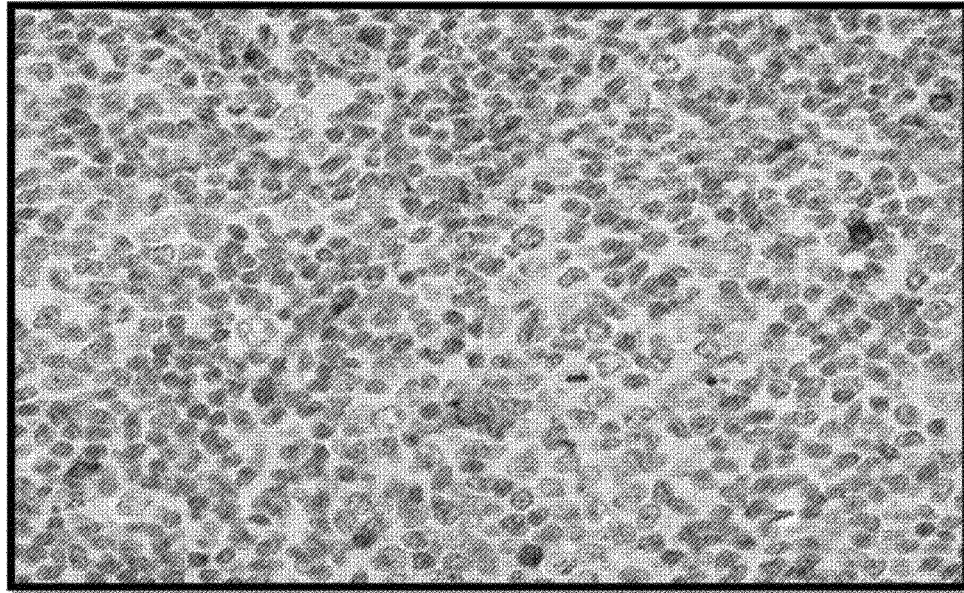
Фиг. 12

A

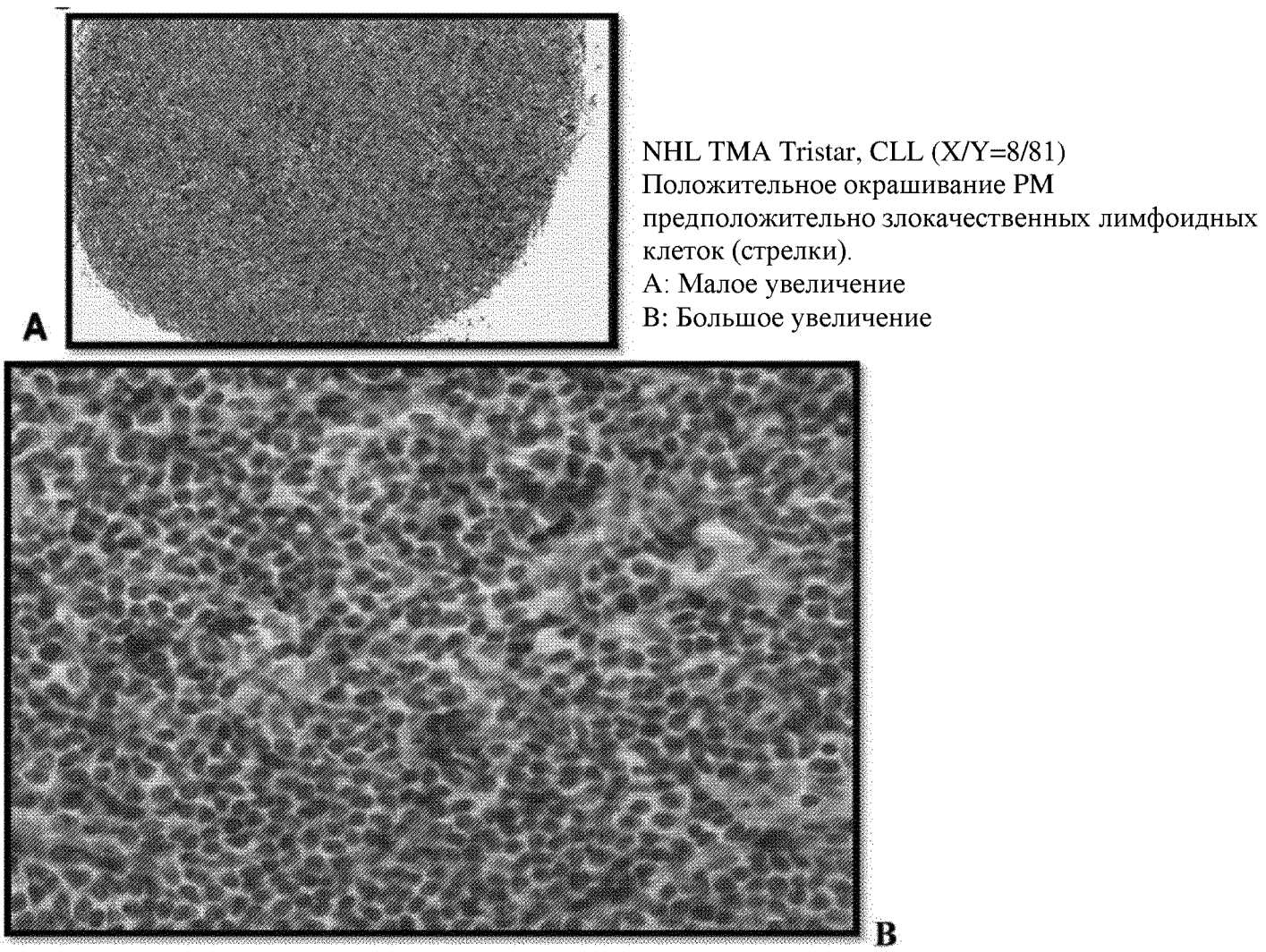


NHL, FL #1119763B
Положительное окрашивание РМ
предположительно злокачественных лимфоидных
клеток (стрелки).
А: Малое увеличение
В: Большое увеличение

В



Фиг. 13



Фиг. 14