



República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112020004879-8 A2



(22) Data do Depósito: 12/09/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 15/09/2020

(54) **Título:** MÉTODOS PARA TRATAR O CÂNCER PANCREÁTICO, PARA TRATAR O CÂNCER E PARA DETERMINAR A RESPONSABILIDADE DE UM SUJEITO COM CÂNCER

(51) **Int. Cl.:** A61K 39/395; A61K 45/06; C07K 16/28; A61K 39/00.

(30) **Prioridade Unionista:** 01/06/2018 US 62/679,612; 01/11/2017 US 62/580,154; 06/11/2017 US 62/581,962; 13/09/2017 US 62/558,161; 15/05/2018 US 62/671,887.

(71) **Depositante(es):** FIVE PRIME THERAPEUTICS, INC.; BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY.

(72) **Inventor(es):** KATHERINE E. LEWIS; SERENA PERNA; MICHAEL CARLETON; KE XU; PENNY PHILLIPS; DIMPLE PANDYA; BRIAN WONG; JULIE HAMBLETON; ROBERT SIKORSKI; EMMA MASTELLER; KEVIN HESTIR; DAVID BELLOVIN; JANINE POWERS; ERNESTINE LEE.

(86) **Pedido PCT:** PCT US2018050711 de 12/09/2018

(87) **Publicação PCT:** WO 2019/055537 de 21/03/2019

(85) **Data da Fase Nacional:** 11/03/2020

(57) **Resumo:** A presente invenção refere-se a métodos de tratamento do câncer pancreático com determinados regimes de dosagem com anticorpos que se ligam ao receptor do fator 1 estimulador de colônias (CSF1R) (por exemplo, cabiralizumabe) em combinação com anticorpos que se ligam à proteína de morte celular programada 1 (PD-1) (por exemplo, nivolumabe).

Resumo do Desenho do Estudo		
Avaliação de Tratamento (Todos os Coortes): Dentro de 28 dias da primeira dose da droga em estudo Ciclo - Dia 1 até Dia 14		
<b>Est. 2a</b> 1) Monoterapia de HuA1 (duas coortes) 2) HuA1 + Nivolumabe: Escalonamento de Dose (três coortes)	<b>RD (Dose Recomendada)</b>	<b>Fase 1b: Expansão de Dose na Dose de Combinação Recomendada de HuA1 + Nivolumabe</b>
<b>Monoterapia de HuA1 (a2a)</b> <b>Coorte 1aM1:</b> 2 mg/kg de HuA1 (FPA008)  <b>Coorte 1aM2:</b> 4 mg/kg de HuA1 6 a 12 pacientes com cânceres avançados		<b>Coorte 1b1:</b> NSCLC: Escalonamento (Não exposto à terapia anti-PD-1 de segundo/terceiro linha) <b>Coorte 1b2:</b> NSCLC (Refratário ao dropa direcionada à PD-1) <b>Coorte 1b3:</b> Melanoma (Não exposto à terapia anti-PD-1) <b>Coorte 1b4:</b> Melanoma (Refratário/Resistente ao terapia direcionada à PD-1) <b>Coorte 1b5:</b> SCCIN (Segunda linha) <b>Coorte 1b6:</b> Câncer Pancreático (Segunda linha) <b>Coorte 1b7:</b> Câncer Colorretal (Terceira linha) <b>Coorte 1b8:</b> GBM (1ª Recidiva)  (cerca de 30 pacientes por coorte, em um total de 240 pacientes)
<b>3+3 Escalonamento de dose terapia combinada (a2a)</b> <b>Coorte 1aC1</b> 1 mg/kg de HuA1 + 3 mg/kg de nivolumabe <b>Coorte 1aC2:</b> 2 mg/kg de HuA1 + 3 mg/kg de nivolumabe <b>Coorte 1aC3</b> 4 mg/kg HuA1 + 3 mg/kg nivolumabe (9 a 18 pacientes com cânceres avançados)		
<b>Término do Tratamento/Viagem de Término Antecipado</b> 28 Dias após a última dose do(s) droga(s) do estudo		

**“MÉTODOS PARA TRATAR O CÂNCER PANCREÁTICO, PARA TRATAR O  
CÂNCER E PARA DETERMINAR A RESPONSIVIDADE DE UM SUJEITO  
COM CÂNCER”**

**CAMPO DA INVENÇÃO**

[0001] A presente invenção refere-se a métodos de tratamento do câncer pancreático com determinados regimes de dosagem com anticorpos que se ligam ao receptor do fator 1 estimulador de colônias (CSF1R) (por exemplo, cabiralizumabe) em combinação com anticorpos que se ligam à proteína de morte celular programada 1 (PD-1) (por exemplo, nivolumabe).

**ANTECEDENTES DA INVENÇÃO**

[0002] O receptor do fator estimulador de colônia 1 (referido na presente invenção como CSF1R, também referido na técnica como FMS, FIM2, C-FMS, receptor M-CSF e CD115) é um receptor transmembranar de passagem única com um domínio extracelular N-terminal (ECD) e um domínio intracelular C-terminal com atividade tirosina-quinase. A ligação do ligante CSF1 ou ligante de interleucina 34 (referida na presente invenção como IL-34; Lin *et al.*, *Science* 320: 807-11 (2008)) ao CSF1R conduz à dimerização do receptor, regulação positiva da atividade da proteína tirosina-quinase de CSF1R, fosforilação dos resíduos de tirosina de CSF1R e eventos de sinalização a jusante deste receptor. A ativação do CSF1R pelo CSF1 ou pela IL-34 leva ao tráfico, sobrevivência, proliferação e diferenciação de monócitos e macrófagos, bem como outras linhagens de células monocíticas, tais como osteoclastos, células dendríticas e da microglia.

[0003] Descobriu-se que muitas células tumorais ou células estromais tumorais produzem CSF1, que ativa monócitos/macrófagos através de CSF1R. Foi demonstrado que o nível de CSF1 em tumores correlaciona-se com o nível de macrófagos associados ao tumor (TAMs) no tumor. Descobriu-se que níveis mais altos de TAMs correlacionam-se com prognósticos mais



fracos dos pacientes na maioria dos cânceres. Além disso, descobriu-se que o CSF1 promove o crescimento tumoral e a progressão para metástase, por exemplo, em xenoenxertos de câncer de mama humano em camundongos. Vide, por exemplo, Paulus *et al.*, *Cancer Res.* 66: 4349-56 (2006). Além disso, o CSF1R desempenha um papel na destruição óssea osteolítica na metástase óssea. Consulte, por exemplo, Ohno *et al.*, *Mol. Cancer Ther.* 5: 2634-43 (2006). Os TAMs promovem o crescimento tumoral, em parte, suprimindo a função efetora de células T antitumorais através da liberação de citocinas imunossupressoras e da expressão de proteínas de superfície inibidoras de células T.

[0004] As alterações genéticas no câncer fornecem um conjunto diverso de antígenos que podem mediar a imunidade antitumoral. O reconhecimento de antígeno através de receptores de células T (TCRs) inicia respostas de células T, que são reguladas por um equilíbrio entre sinais de ativação e inibitórios. Os sinais inibitórios ou “pontos de controle (*checkpoints*) imunes”, desempenham um papel importante em tecidos normais prevenindo autoimunidade. A regulação positiva (*upregulation*) de proteínas de ponto de controle imunes permite que os cânceres escapem da imunidade antitumoral. Duas proteínas de ponto de controle imunes foram o foco de imunoterápicos clínicos contra o câncer, o antígeno 4 associado aos linfócitos T citotóxicos (CTLA-4) e a proteína de morte celular programada 1 (PD-1). A combinação de um anticorpo anti-CTLA-4 e um anticorpo anti-PD-1 foi aprovada para o tratamento de melanoma metastático e vários ensaios clínicos adicionais também estão em andamento para estudar o uso desta combinação para o tratamento de outros cânceres. Os anticorpos anti-PD-1 e anticorpos anti-CTLA-4 para uso como monoterapias também estão atualmente sendo estudados em ensaios clínicos como um tratamento para muitos tipos diferentes de câncer. Os anticorpos anti-PD-L1 que se ligam ao PD-L1, um dos

ligantes para PD-1, também estão atualmente em fase de desenvolvimento clínico.

[0005] Muitos tumores frequentemente expressam simultaneamente múltiplas moléculas de pontos de controle, portanto, combinações de moduladores de pontos de controle estão sendo submetido a estudos clínicos com o objetivo de eficácia aprimorada. Os resultados clínicos iniciais da combinação de um anticorpo anti-CTLA-4 (Ab anti-CTLA-4) e um anticorpo anti-PD-1 (Ab anti-PD-1) demonstraram taxas de resposta total aprimorada, taxas de resposta completa aumentada, bem como taxas de sobrevida global em melanoma metastático, em comparação ao Ab anti-CTLA-4 sozinho ou controles históricos.

#### **DESCRIÇÃO RESUMIDA DA INVENÇÃO**

[0006] Como descrito na presente invenção, estudos de Fase Ia/b de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com um anticorpo anti-CSF1R estão em andamento. (Consulte, por exemplo, o estudo clínico NCT02526017, resumo disponível no site da Internet *ClinicalTrials.gov*). Com base nos resultados preliminares de segurança e farmacodinâmica, um regime de dosagem específico para uma combinação de cabiralizumabe (anticorpo anti-CSF1R) e nivolumabe (anticorpo anti-PD-1) para pacientes com câncer de pâncreas foi selecionado para estudos de expansão da dose.

[0007] Em alguns exemplos de realização, a presente divulgação fornece métodos de tratamento do câncer, tal como de tumores sólidos, por exemplo, câncer pancreático, incluindo adenocarcinoma pancreático ductal, câncer pancreático avançado, câncer pancreático metastático, como câncer pancreático metastizado no fígado e/ou pulmão, e câncer pancreático com estabilidade de microssatélites (MSS), em um indivíduo, cujos métodos compreendem administrar ao indivíduo 4 mg/kg de um anticorpo anti-CSF1R e 3 mg/kg de um anticorpo anti-PD-1, em que os anticorpos são administrados

uma vez a cada duas semanas, e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo uma região 1 determinante da complementaridade (CDR1) de cadeia pesada (HC) que possui a sequência de SEQ ID NO: 5, uma CDR2 HC que possui a sequência de SEQ ID NO: 6, e uma CDR3 HC que possui a sequência de SEQ ID NO: 7, e uma cadeia leve compreendendo uma região 1 determinante da complementaridade (CDR1) de cadeia leve (LC) que possui a sequência de SEQ ID NO: 8, uma CDR2 LC que possui a sequência de SEQ ID NO: 9, e uma CDR3 LC que possui a sequência de SEQ ID NO: 10; e em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) que possui a sequência de SEQ ID NO: 28, uma CDR2 HC que possui a sequência de SEQ ID NO: 30, e uma CDR3 HC que possui a sequência de SEQ ID NO: 32, e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) que possui a sequência de SEQ ID NO: 35, uma CDR2 LC que possui a sequência de SEQ ID NO: 37, e uma CDR3 LC que possui a sequência de SEQ ID NO: 39. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R e/ou o anticorpo anti-PD-1 compreende as cadeias pesada e/ou leve completas (com o comprimento total), ou alternativamente são fragmentos Fab, Fv, scFv, Fab' e (Fab')<sub>2</sub>.

[0008] Em alguns exemplos de realização, a cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 23 e em que a cadeia leve do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 25. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 23 e 24; e em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 25 e 26. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é o nivolumabe, pembrolizumabe ou PDR001.

[0009] Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 11; e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 12. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 13; e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 14. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é o cabiralizumabe.

[0010] Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é administrado ao sujeito antes do anticorpo anti-CSF1R. Em tais exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é administrado de 30 minutos a 120 minutos após o inibidor de PD-1/PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é infundido por um período de 30-60 minutos e o anticorpo anti-CSF1R é infundido por um período de 30-60 minutos. Em alguns exemplos de realização, a infusão do anticorpo anti-CSF1R é iniciada 30-120 minutos após o final da infusão do anticorpo anti-PD-1. Em alguns exemplos de realização, a infusão do anticorpo anti-CSF1R é iniciada 30-60 minutos (por exemplo, 30 minutos) após o final da infusão do anticorpo anti-PD-1.

[0011] Em alguns exemplos de realização, o sujeito falhou anteriormente no tratamento com uma terapia padrão para câncer pancreático ou não está indicado para tratamento com uma terapia padrão. Em alguns exemplos de realização, o sujeito recebeu anteriormente uma terapia com inibidor de PD-1/PD-L1. Em alguns destes exemplos de realização, o sujeito tem resposta inadequada ao inibidor de PD-1/PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é refratário a um inibidor de PD-1/PD-L1, por exemplo, após pelo menos 2 doses.

[0012] Em alguns exemplos de realização, o sujeito tem um

adenocarcinoma localizado no pâncreas. Em alguns exemplos de realização, o sujeito tem adenocarcinoma de pâncreas metastático. Em alguns exemplos de realização, o sujeito tem câncer pancreático avançado. Em alguns exemplos de realização, o sujeito não tem pancreatite ativa ou ascite de Grau 2 ou superior. Em alguns exemplos de realização, o(s) tumor(es) pancreático(s) do indivíduo são positivos para PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito tem redução dos monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> circulantes após pelo menos uma dose de cada um dos anticorpos anti-CSF1R e anti-PD-1. Por exemplo, em alguns casos, os monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> são reduzidos abaixo de 10 monócitos por microlitro de sangue periférico dentro de 3 dias após uma primeira dose de cada anticorpo, anti-CSF1R e anti-PD-1, e permanecem abaixo de 10 monócitos por microlitro de sangue periférico por pelo menos mais 10 dias. Em alguns exemplos de realização, o sujeito tem câncer pancreático avançado e/ou câncer pancreático metastático, como com metástase para outro órgão, como fígado e/ou pulmão, e/ou é um sujeito que apresenta estabilidade de microssatélites (MSS) e/ou possui um tumor com microssatélite estável. Em alguns exemplos de realização, o câncer pancreático foi determinado como estável para microssatélites (MSS) e/ou foi determinado como tendo uma carga de mutação tumoral (TMB) inferior a 20 mutações/megabase, menos de 15 mutações/megabase ou menos de 10 mutações/megabase pelo ensaio Foundation One<sup>®</sup> CDx<sup>®</sup>; ou menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações de sentido errado ou trocado (*missense*) pelo WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer pancreático do sujeito progrediu após pelo menos um regime de quimioterapia à base de gencitabina ou à base de 5-fluorouracila.

[0013] Também são abrangidos pela presente invenção métodos de tratamento do câncer, tais como tumores sólidos, por exemplo, o câncer pancreático, incluindo adenocarcinoma pancreático ductal, câncer pancreático

avançado, câncer pancreático metastático, tal como o câncer pancreático com metástase para o fígado e/ou pulmão, e câncer pancreático com estabilidade de microssatélites (MSS), em um indivíduo que compreende a administração ao indivíduo de 2, 3 ou 4 mg/kg de um anticorpo anti-CSF1R uma vez a cada duas semanas e 400-600 mg de anticorpo anti-PD-1 uma vez a cada quatro semanas; em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) que possui a sequência de SEQ ID NO: 5, uma CDR2 HC que possui a sequência de SEQ ID NO: 6, e uma CDR3 HC que possui a sequência de SEQ ID NO: 7, e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) que possui a sequência de SEQ ID NO: 8, uma CDR2 LC que possui a sequência de SEQ ID NO: 9, e uma CDR3 LC que possui a sequência de SEQ ID NO: 10; e em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) que possui a sequência de SEQ ID NO: 28, uma CDR2 HC que possui a sequência de SEQ ID NO: 30, e uma CDR3 HC que possui a sequência de SEQ ID NO: 32, e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) que possui a sequência de SEQ ID NO: 35, uma CDR2 LC que possui a sequência de SEQ ID NO: 37, e uma CDR3 LC que possui a sequência de SEQ ID NO: 39.

[0014] Em alguns exemplos de realização, o sujeito é administrado com 4 mg/kg do anticorpo anti-CSF1R uma vez a cada duas semanas e 450-500 mg o anticorpo anti-PD-1 uma vez a cada quatro semanas. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é administrado com 4 mg/kg do anticorpo anti-CSF1R uma vez a cada duas semanas e 480 mg o anticorpo anti-PD-1 uma vez a cada quatro semanas.

[0015] Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende cadeias pesadas e/ou leves completas (de comprimento total), ou é um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>. Em alguns exemplos de

realização, o anticorpo anti-PD1 compreende cadeias pesadas e/ou leves completas (de comprimento total), ou é um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>. Em alguns exemplos de realização, a cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 23 e em que a cadeia leve do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 25. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 23 e 24; e em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 25 e 26. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é o nivolumabe, pembrolizumabe ou PDR001. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 11; e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 12. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 13; e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 14. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é o cabiralizumabe. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é infundido por um período de 30-60 minutos e o anticorpo anti-CSF1R é infundido por um período de 30-60 minutos. Em alguns exemplos de realização, o sujeito falhou anteriormente no tratamento com uma terapia padrão para câncer pancreático ou não está indicado para tratamento com uma terapia padrão.

[0016] Em alguns exemplos de realização, o sujeito recebeu anteriormente uma terapia com inibidor de PD-1/PD-L1. Em alguns destes casos, o sujeito tem resposta inadequada ao inibidor de PD-1/PD-L1. Em

alguns destes casos, o sujeito é refratário a um inibidor de PD-1/PD-L1, por exemplo, após pelo menos 2 doses. Em alguns exemplos de realização, o sujeito tem um adenocarcinoma localizado no pâncreas. Em alguns exemplos de realização, o sujeito tem adenocarcinoma de pâncreas metastático. Em alguns exemplos de realização, o sujeito não tem pancreatite ativa ou ascite de Grau 2 ou superior. Em alguns exemplos de realização, o(s) tumor(es) pancreático(s) do indivíduo são positivos para PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito tem redução dos monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> circulantes após pelo menos uma dose de cada um dos anticorpos anti-CSF1R e anti-PD-1. Em alguns exemplos de realização, os monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> são reduzidos para contagens abaixo de 10 monócitos por microlitro de sangue periférico dentro de 3 dias após uma primeira dose de cada anticorpo, anti-CSF1R e anti-PD-1, e permanecem abaixo de 10 monócitos por microlitro de sangue periférico por pelo menos mais 10 dias. Em alguns exemplos de realização, o sujeito tem câncer pancreático avançado e/ou câncer pancreático metastático, tal como com metástase para outro órgão como o fígado e/ou pulmão, e/ou é um sujeito tem microssatélites estáveis (MSS). Em alguns exemplos de realização, o câncer pancreático foi determinado como estável para microssatélites (MSS) e/ou foi determinado como tendo uma carga de mutação tumoral (TMB) inferior a 20 mutações/megabase, menos de 15 mutações/megabase ou menos de 10 mutações/megabase pelo ensaio Foundation One<sup>®</sup> CDx<sup>®</sup>; ou menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações de sentido errado ou trocado (*missense*) pelo WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer pancreático do sujeito progrediu após pelo menos um regime de quimioterapia à base de gencitabina ou à base de 5-fluorouracila.

[0017] Também são abrangidos pela presente invenção métodos de tratamento do câncer, tais como tumores sólidos, por exemplo, o câncer



pancreático, incluindo adenocarcinoma pancreático ductal, câncer pancreático avançado, câncer pancreático metastático, tal como o câncer pancreático com metástase para o fígado e/ou pulmão, e câncer pancreático com estabilidade de microssatélites (MSS), em um indivíduo que compreende a administração ao indivíduo de 2, 3 ou 4 mg/kg de um anticorpo anti-CSF1R uma vez a cada duas semanas e 400-600 mg de anticorpo anti-PD-1 uma vez a cada quatro semanas, em combinação com quimioterapia compreendendo gemcitabina ou 5-fluorouracila (5-FU); em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) que possui a sequência de SEQ ID NO: 5, uma CDR2 HC que possui a sequência de SEQ ID NO: 6, e uma CDR3 HC que possui a sequência de SEQ ID NO: 7, e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) que possui a sequência de SEQ ID NO: 8, uma CDR2 LC que possui a sequência de SEQ ID NO: 9, e uma CDR3 LC que possui a sequência de SEQ ID NO: 10; e em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) que possui a sequência de SEQ ID NO: 28, uma CDR2 HC que possui a sequência de SEQ ID NO: 30, e uma CDR3 HC que possui a sequência de SEQ ID NO: 32, e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) que possui a sequência de SEQ ID NO: 35, uma CDR2 LC que possui a sequência de SEQ ID NO: 37, e uma CDR3 LC que possui a sequência de SEQ ID NO: 39.

[0018] Em alguns exemplos de realização, o sujeito é administrado com 4 mg/kg do anticorpo anti-CSF1R uma vez a cada duas semanas e 450-500 mg o anticorpo anti-PD-1 uma vez a cada quatro semanas. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é administrado com 4 mg/kg do anticorpo anti-CSF1R uma vez a cada duas semanas e 480 mg o anticorpo anti-PD-1 uma vez a cada quatro semanas. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é administrado com quimioterapia compreendendo gemcitabina e nab-

paclitaxel. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é administrado com quimioterapia compreendendo 5-FU, leucovorina e irinotecano lipossômico. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é administrado com quimioterapia compreendendo FOLFOX. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende cadeias pesadas e/ou leves completas (de comprimento total), ou, alternativamente, é um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD1 compreende cadeias pesadas e/ou leves completas (de comprimento total), ou, alternativamente, é um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>.

[0019] Em alguns exemplos de realização, a cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 23 e em que a cadeia leve do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 25. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 23 e 24; e em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 25 e 26. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é o nivolumabe, pembrolizumabe ou PDR001. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 11; e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 12. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 13; e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 14. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é o cabiralizumabe. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é

infundido por um período de 30-60 minutos e o anticorpo anti-CSF1R é infundido por um período de 30-60 minutos.

[0020] Em alguns exemplos de realização, o sujeito falhou anteriormente no tratamento com uma terapia padrão para câncer pancreático ou não está indicado para tratamento com uma terapia padrão. Em alguns exemplos de realização, o sujeito recebeu anteriormente uma terapia com inibidor de PD-1/PD-L1. Em alguns destes exemplos de realização, o sujeito tem resposta inadequada ao inibidor de PD-1/PD-L1.

[0021] Em alguns exemplos de realização, o sujeito é refratário a um inibidor de PD-1/PD-L1, por exemplo, após pelo menos 2 doses. Em alguns exemplos de realização, o sujeito tem um adenocarcinoma localizado no pâncreas. Em alguns exemplos de realização, o sujeito tem adenocarcinoma de pâncreas metastático. Em alguns exemplos de realização, o sujeito não tem pancreatite ativa ou ascite de Grau 2 ou superior. Em alguns exemplos de realização, o(s) tumor(es) pancreático(s) do indivíduo são positivos para PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito tem redução dos monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> circulantes após pelo menos uma dose de cada um dos anticorpos anti-CSF1R e anti-PD-1. Em alguns exemplos de realização, os monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> são reduzidos para contagens abaixo de 10 monócitos por microlitro de sangue periférico dentro de 3 dias após uma primeira dose de cada anticorpo, anti-CSF1R e anti-PD-1, e permanecem abaixo de 10 monócitos por microlitro de sangue periférico por pelo menos mais 10 dias. Em alguns exemplos de realização, o sujeito tem câncer pancreático avançado e/ou câncer pancreático metastático, tal como com metástase para outro órgão como o fígado e/ou pulmão, e/ou é um sujeito tem microssatélites estáveis (MSS). Em alguns exemplos de realização, o câncer pancreático foi determinado como estável para microssatélites (MSS) e/ou foi determinado como tendo uma carga de mutação tumoral (TMB) inferior a 20

mutações/megabase, menos de 15 mutações/megabase ou menos de 10 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio Foundation One® CDx®; e/ou com menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações de sentido errado ou trocado (*missense*), conforme determinado por sequenciamento completo do genoma (WES - *whole exome sequencing*). Em alguns exemplos de realização, o câncer pancreático do sujeito progrediu após pelo menos um regime de quimioterapia à base de gencitabina ou à base de 5-fluorouracila.

[0022] A presente divulgação também abrange métodos de tratamento do câncer em um sujeito, cujo método compreende a administração ao sujeito de um anticorpo anti-CSF1R e um anticorpo anti-DP-1, em que o câncer foi determinado como sendo estável para microssatélites (MSS) e/ou foi determinado como possuindo uma TMB inferior a 20, 15 ou 10 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio *Foundation One*® CDx® e/ou com menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações *missense*, conforme determinado pelo WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer foi determinado (i) como MSS e (ii) como com uma TMB inferior a 20, 15 ou 10 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio *Foundation One*® CDx® e/ou com menos de 400, 300 ou 200 mutações *missense*, conforme determinado pelo WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer foi determinado como possuindo uma TMB inferior a 15 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio *Foundation One*® CDx® e/ou com menos de 300 mutações *missense*, conforme determinado pelo WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer foi determinado como possuindo uma TMB inferior a 10 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio *Foundation One*® CDx® e/ou com menos de 200 mutações *missense*, conforme determinado pelo WES. Em alguns desses métodos, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo uma

CDR1 de cadeia pesada (HC) com a sequência de SEQ ID NO: 5, uma CDR2 HC com a sequência de SEQ ID NO: 6 e uma CDR3 HC com a sequência de SEQ ID NO: 7 e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) com a sequência de SEQ ID NO: 8, uma CD CDR2 com a sequência de SEQ ID NO: 9 e uma CD CDR3 com a sequência de SEQ ID NO: 10; e o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada que compreende uma CDR1 de cadeia pesada (HC) com a sequência de SEQ ID NO: 28, uma CDR2 HC com a sequência de SEQ ID NO: 30 e uma CDR3 HC com a sequência de SEQ ID NO: 32, e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) com a sequência de SEQ ID NO: 35, uma CDR2 LC com a sequência de SEQ ID NO: 37 e uma CDR3 LC com a sequência de SEQ ID NO: 39. Em alguns métodos, o anticorpo anti-CSF1R é um Fab, um fragmento Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub> e/ou o anticorpo anti-PD-1 é um Fab, um fragmento Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>. Em alguns desses métodos, a cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 23 e em que a cadeia leve do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 25. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 23 e 24; e em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 25 e 26. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é o nivolumabe ou pembrolizumabe ou PDR001. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 11; e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 12. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de

SEQ ID NO: 13; e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 14. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é o cabiralizumabe. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF-1R é o emactuzumabe (RG7155), AMG 820 ou SNDX 6352 (UCB 6352). Em alguns exemplos de realização, um agente anti-CSF-1R não anticorpo é usado no lugar do anticorpo anti-CSF1R, como uma molécula pequena, por exemplo, JNJ-40346527 (agora PRV-6527), por exemplo, um inibidor de tirosina quinase anti-CSF1R, ou outra modalidade.

[0023] Em alguns dos métodos mencionados acima, o anticorpo anti-PD-1 é administrado ao sujeito antes do anticorpo anti-CSF1R. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é administrado de 30 minutos a 120 minutos após o inibidor de PD-1. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é infundido por um período de 30-60 minutos e o anticorpo anti-CSF1R é infundido por um período de 30-60 minutos. Em alguns exemplos de realização, a infusão do anticorpo anti-CSF1R é iniciada 30-120 minutos após o final da infusão do anticorpo anti-PD-1. Em alguns exemplos de realização, a infusão do anticorpo anti-CSF1R é iniciada 30-60 minutos (por exemplo, 30 minutos) após o final da infusão do anticorpo anti-PD-1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito recebeu anteriormente uma terapia com inibidor de PD-1/PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é um mau respondedor ao inibidor de PD-1/PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é refratário a um inibidor de PD-1/PD-L1, por exemplo, após pelo menos 2 doses. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é cabiralizumabe e o anticorpo anti-PD-1 é nivolumabe, em que o cabiralizumabe é administrado na dose de 4 mg/kg uma vez a cada duas semanas e o nivolumabe é administrado na dose de 3 mg/kg uma vez a cada duas semanas. Em alguns exemplos de realização, o câncer é câncer pancreático, câncer de ovário, câncer renal, glioma maligno, melanoma, câncer de pulmão de células

não pequenas (NSCLC) ou carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço (SCCHN).

[0024] A presente divulgação também contempla método de tratamento do câncer em um sujeito, compreendendo a administração ao sujeito de pelo menos uma dose de um anticorpo anti-CSF1R e um anticorpo anti-PD-1, tal como, por exemplo, uma dose única ou duas doses dos anticorpos, em que o nível de expressão de pelo menos um gene marcador é determinado antes e após a administração, e o pelo menos um gene marcador compreende um ou mais dentre: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1, TNF, CD72, CD79A, CD79B, MS4A1, TNFRSF17, CD3D, CD8A, CD8B, GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7, PRF1, BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT e FOXP3. Se os dados do nível de expressão indicarem que o nível de expressão de pelo menos um gene marcador aumenta após a administração, a administração do anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1 ao sujeito pode continuar. Alguns exemplos de realização compreendem um método de tratamento do câncer em um sujeito, compreendendo a administração ao sujeito de pelo menos uma dose de um anticorpo anti-CSF1R e um anticorpo anti-PD-1, em que o nível de expressão de pelo menos um gene marcador é determinado como aumentado após a administração, e o pelo menos um gene marcador compreende um ou mais dentre: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1, TNF, CD72, CD79A, CD79B, MS4A1, TNFRSF17, CD3D, CD8A, CD8B, GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7, PRF1, BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT e FOXP3; e, em seguida, a administração do anticorpo anti-CSF1R e do anticorpo anti-PD-1 ao sujeito é continuada. Em exemplos de realização adicionais, o método compreende primeiro determinar ou ter

determinado o nível de expressão de pelo menos um gene marcador que compreende um ou mais dentre: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1, TNF, CD72, CD79A, CD79B, MS4A1, TNFRSF17, CD3D, CD8A, CD8B, GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7, PRF1, BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT e FOXP3, e então administrando pelo menos uma dose do anticorpo anti-CSF1R e do anticorpo anti-PD-1, como uma ou duas doses de anticorpos, e depois redeterminando ou determinando o nível de expressão do pelo menos um gene marcador. Se os dados de nível de expressão indicarem que o nível de expressão de pelo menos um gene marcador aumenta após a administração, a administração do anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1 ao sujeito pode continuar. Em exemplos de realização adicionais, o método compreende primeiro determinar ou ter determinado o nível de expressão de pelo menos um gene marcador que compreende um ou mais dentre: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1, TNF, CD72, CD79A, CD79B, MS4A1, TNFRSF17, CD3D, CD8A, CD8B, GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7, PRF1, BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT e FOXP3, e então administrando pelo menos uma dose do anticorpo anti-CSF1R e do anticorpo anti-PD-1, como uma ou duas doses de anticorpos, e determinando que o nível de expressão do pelo menos um gene marcador aumentou após a administração, seguido pela administração adicional do anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1 ao sujeito. Exemplos de realização da invenção também incluem métodos de tratamento de câncer em um sujeito, compreendendo administrar ao sujeito pelo menos uma dose de um anticorpo anti-CSF1R e de um anticorpo anti-PD-1, em que o nível de expressão de pelo menos um gene marcador compreendendo um ou ambos de CSF-1 e IL-34 é determinado antes e após a



administração; e continuando a administrar o anticorpo anti-CSF1R e o anticorpo anti-PD-1 ao sujeito se o nível de expressão de pelo menos um gene marcador compreendendo um ou ambos dentre CSF-1 e IL-34 aumentar após a administração de (a) comparado ao nível de expressão determinado antes da administração. Exemplos de realização da presente invenção também incluem métodos de tratamento de câncer em um sujeito, compreendendo administrar ao sujeito pelo menos uma dose de um anticorpo anti-CSF1R e de um anticorpo anti-PD-1, em que o nível de expressão de pelo menos um gene marcador compreendendo um ou ambos dentre CSF-1 e IL-34 é determinado como aumentado após a administração e continuação da administração do anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1 ao sujeito. Exemplos de realização da presente invenção também incluem métodos de tratamento de câncer em um sujeito, compreendendo administrar ao sujeito pelo menos uma dose de um anticorpo anti-CSF1R e de um anticorpo anti-PD-1, determinando o nível de expressão de pelo menos um gene marcador compreendendo um ou ambos dentre CSF-1 e IL-34 antes e após a administração, em que, se o nível de expressão de pelo menos um gene marcador for determinado como aumentado após a administração, continua-se a administrar os anticorpos anti-CSF1R e anti-PD-1 ao sujeito. Exemplos de realização da presente invenção também incluem métodos de tratamento de câncer em um sujeito, compreendendo administrar ao sujeito pelo menos uma dose de um anticorpo anti-CSF1R e de um anticorpo anti-PD-1, determinando que o nível de expressão de pelo menos um gene marcador compreendendo um ou ambos dentre CSF-1 e IL-34 aumentaram após a administração, continuando-se a administrar os anticorpos anti-CSF1R e anti-PD-1 ao sujeito.

[0025] Em qualquer um dos métodos acima, o pelo menos um gene marcador compreende: (a) pelo menos um gene marcador pró-inflamatório compreendendo: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10,

CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1 e TNF, (b) pelo menos um marcador de célula B compreendendo: CD72, CD79A, CD79B, MS4A1 e TNFRSF17, (c) pelo menos um marcador de célula T CD8 compreendendo: CD3D, CD8A e CD8B, (d) pelo menos um marcador de célula T efetora citolítica compreendendo: GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7 e PRF1; e/ou (e) pelo menos um marcador do receptor de célula T efetora compreendendo: BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT e FOXP3. Qualquer um dos métodos referidos acima pode compreender adicionalmente a medição do nível de uma expressão ou mais dentre CSF1R, CSF-1 e IL-34, em que aumentos nos níveis de expressão de CSF-1 e IL-34 após a administração indicam que o sujeito é sensível ao tratamento com o anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1, enquanto uma diminuição no nível de expressão de CSF1R indica que o sujeito não responde ao tratamento com o anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1. Em alguns exemplos de realização, os métodos compreendem ainda determinar o nível de expressão de um ou mais marcadores anti-inflamatórios compreendendo: ARG1, C5AR1, CD14, CD163, CXCR1, CXCR2, IL1A, IL1RN, IL8, MRC1, MSR1, PF4, PPBP, S100A12, S100A8, SAA1, S100A9 e TGFB1. Em alguns exemplos de realização, os níveis desses marcadores não mudam ou não aumentam nos sujeitos responsivos ao tratamento com o anticorpo anti-CSF1R e o anticorpo anti-PD-1.

[0026] Em qualquer um dos métodos acima, o nível de expressão de pelo menos um gene marcador pode ser o nível de expressão de RNA, por exemplo, medido por análise de transcriptoma ou PCR de transcrição reversa. Em qualquer um dos métodos acima, o nível de expressão pode, por exemplo, ser medido em células tumorais, ou seja, em células de uma amostra de tumor, como uma amostra de biópsia. Em qualquer um dos métodos de tratamento do câncer acima, o câncer pode ter sido determinado como MSS e/ou ter uma

TMB inferior a 20, inferior a 15 ou inferior a 10 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio Foundation One® CDx®; e/ou com menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações de sentido errado ou trocado (*missense*), conforme determinado pelo sequenciamento completo do genoma (WES). Em alguns exemplos de realização, o câncer foi determinado (i) como MSS e (ii) como com uma TMB inferior a 20, inferior a 15 ou inferior a 10 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio *Foundation One*® CDx® e/ou com menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações *missense*, conforme determinado pelo WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer foi determinado como possuindo uma TMB inferior a 15 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio *Foundation One*® CDx® e/ou com menos de 300 mutações *missense*, conforme determinado pelo WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer foi determinado como possuindo uma TMB inferior a 10 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio *Foundation One*® CDx® e/ou com menos de 200 mutações *missense*, conforme determinado pelo WES.

[0027] Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R pode compreender uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) com a sequência de SEQ ID NO: 5, uma CDR2 HC com a sequência de SEQ ID NO: 6 e uma CDR3 HC com a sequência de SEQ ID NO: 7 e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) com a sequência de SEQ ID NO: 8, uma CD CDR2 com a sequência de SEQ ID NO: 9 e uma CD CDR3 com a sequência de SEQ ID NO: 10; e o anticorpo anti-PD-1 pode compreender uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) com a sequência de SEQ ID NO: 28, uma CDR2 HC com a sequência de SEQ ID NO: 30 e uma CDR3 HC com a sequência de SEQ ID NO: 32, e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) com a sequência de SEQ ID NO: 35, uma CDR2 LC com a sequência de SEQ

ID NO: 37 e uma CDR3 LC com a sequência de SEQ ID NO: 39. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>. Em alguns exemplos de realização, a cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 23 e em que a cadeia leve do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 25. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 23 e 24; e em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 25 e 26. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é o nivolumabe ou pembrolizumabe ou PDR001. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 11; e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 12. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 13; e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 14. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é o cabiralizumabe. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é administrado ao sujeito antes do anticorpo anti-CSF1R. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é administrado de 30 minutos a 120 minutos após o inibidor de PD-1. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é infundido por um período de 30-60 minutos e o anticorpo anti-CSF1R é infundido por um período de 30-60 minutos. Em alguns exemplos de realização, a infusão do anticorpo

anti-CSF1R é iniciada 30-120 minutos após o final da infusão do anticorpo anti-PD-1. Em alguns exemplos de realização, a infusão do anticorpo anti-CSF1R é iniciada 30-60 minutos (por exemplo, 30 minutos) após o final da infusão do anticorpo anti-PD-1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito recebeu anteriormente uma terapia com inibidor de PD-1/PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é um mau respondedor ao inibidor de PD-1/PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é refratário a um inibidor de PD-1/PD-L1, por exemplo, após pelo menos 2 doses. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é cabiralizumabe e o anticorpo anti-PD-1 é nivolumabe, em que o cabiralizumabe é administrado na dose de 4 mg/kg uma vez a cada duas semanas e o nivolumabe é administrado na dose de 3 mg/kg uma vez a cada duas semanas. Em alguns exemplos de realização, o câncer é câncer pancreático, câncer de ovário, câncer renal, glioma maligno, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC) ou carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço (SCCHN). Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF-1R é o emactuzumabe (RG7155), AMG 820 ou SNDX 6352 (UCB 6352). Em alguns exemplos de realização, um inibidor de CSF-1R não anticorpo é usado no lugar do anticorpo anti-CSF1R, tal como uma molécula pequena, por exemplo, JNJ-40346527 (agora PRV-6527), por exemplo, um inibidor de tirosina quinase anti-CSF1R, ou outra modalidade.

[0028] A presente divulgação também inclui um método para determinar a responsividade de um indivíduo com câncer ao tratamento com uma combinação de um anticorpo anti-CSF1R e um anticorpo anti-PD-1, cujo método compreende a determinação do nível de expressão de pelo menos um gene marcador antes e depois que o sujeito é administrado com pelo menos uma dose dos anticorpos anti-CSF1R e anti-PD-1, em que o pelo menos um gene marcador compreende um ou mais dentre: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1, TNF, CD72,

CD79A, CD79B, MS4A1, TNFRSF17, CD3D, CD8A, CD8B, GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7, PRF1, BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT e FOXP3. Um aumento no nível de expressão do pelo menos um gene marcador indica a capacidade de resposta (responsividade) em alguns exemplos de realização. Em qualquer um dos métodos acima, o pelo menos um gene marcador compreende: (a) pelo menos um gene marcador pró-inflamatório compreendendo: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1 e TNF, (b) pelo menos um marcador de célula B compreendendo: CD72, CD79A, CD79B, MS4A1 e TNFRSF17, (c) pelo menos um marcador de célula T CD8 compreendendo: CD3D, CD8A e CD8B, (d) pelo menos um marcador de célula T efetora citolítica compreendendo: GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7 e PRF1; e/ou (e) pelo menos um marcador do receptor de célula T efetora compreendendo: BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT e FOXP3. Qualquer um dos métodos referidos acima pode compreender adicionalmente a medição do nível de uma expressão ou mais dentre CSF1R, CSF-1 e IL-34, em que aumentos nos níveis de expressão de CSF-1 e IL-34 após a administração indicam que o sujeito é sensível ao tratamento com o anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1, enquanto uma diminuição no nível de expressão de CSF1R indica que o sujeito não responde ao tratamento com o anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1. Também estão incluídos neste documento métodos para determinar a responsividade de um indivíduo com câncer ao tratamento com uma combinação de um anticorpo anti-CSF1R e um anticorpo anti-PD-1, cujo método compreende a determinação do nível de expressão de pelo menos um gene marcador antes e após o sujeito ser administrado com pelo menos uma dose do anticorpo anti-CSF1R e do anticorpo anti-PD-1, pelo menos um gene marcador compreendendo um ou ambos dentre CSF-1 e IL-34, em que um

aumento no nível de expressão do pelo menos um gene marcador após a administração indica que o sujeito é responsivo ao tratamento combinado com o anticorpo anti-CSF1R e o anticorpo anti-PD-1.

[0029] Em alguns exemplos de realização, os métodos compreendem ainda determinar o nível de expressão de um ou mais marcadores anti-inflamatórios compreendendo: ARG1, C5AR1, CD14, CD163, CXCR1, CXCR2, IL1A, IL1RN, IL8, MRC1, MSR1, PF4, PPBP, S100A12, S100A8, SAA1, S100A9 e TGFB1. Em alguns exemplos de realização, os níveis desses marcadores não mudam ou não aumentam nos sujeitos responsivos ao tratamento com o anticorpo anti-CSF1R e o anticorpo anti-PD-1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é administrado com uma ou duas doses do anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1 entre as determinações do nível de expressão do pelo menos um gene marcador. Em alguns exemplos de realização, os métodos compreendem ainda determinar o nível de expressão de um ou mais marcadores anti-inflamatórios compreendendo: ARG1, C5AR1, CD14, CD163, CXCR1, CXCR2, IL1A, IL1RN, IL8, MRC1, MSR1, PF4, PPBP, S100A12, S100A8, SAA1, S100A9 e TGFB1. Em alguns exemplos de realização, os níveis desses marcadores não mudam ou não aumentam nos sujeitos responsivos ao tratamento com o anticorpo anti-CSF1R e o anticorpo anti-PD-1. Em qualquer um dos métodos acima, o nível de expressão de pelo menos um gene marcador pode ser o nível de expressão de RNA, por exemplo, medido por análise de transcriptoma ou PCR de transcrição reversa. Em qualquer um dos métodos acima, o nível de expressão pode, por exemplo, ser medido em células tumorais, ou seja, em células de uma amostra de tumor, como uma amostra de biópsia. Em qualquer um dos métodos acima, o câncer pode ter sido determinado como MSS e/ou ter uma TMB inferior a 20, inferior a 15 ou inferior a 10 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio Foundation One® CDx®; e/ou com menos de 400,

menos de 300 ou menos de 200 mutações de sentido errado ou trocado (*missense*), conforme determinado pelo WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer foi determinado (i) como MSS e (ii) como com uma TMB inferior a 20, inferior a 15 ou inferior a 10 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio *Foundation One*® CDx® e/ou com menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações *missense*, conforme determinado pelo WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer foi determinado como possuindo uma TMB inferior a 15 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio *Foundation One*® CDx® e/ou com menos de 300 mutações/megabase, conforme determinado pelo WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer foi determinado como possuindo uma TMB inferior a 10 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio *Foundation One*® CDx® e/ou com menos de 200 mutações *missense*, conforme determinado pelo WES.

[0030] Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R pode compreender uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) com a sequência de SEQ ID NO: 5, uma CDR2 HC com a sequência de SEQ ID NO: 6 e uma CDR3 HC com a sequência de SEQ ID NO: 7 e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) com a sequência de SEQ ID NO: 8, uma CD CDR2 com a sequência de SEQ ID NO: 9 e uma CD CDR3 com a sequência de SEQ ID NO: 10; e o anticorpo anti-PD-1 pode compreender uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) com a sequência de SEQ ID NO: 28, uma CDR2 HC com a sequência de SEQ ID NO: 30 e uma CDR3 HC com a sequência de SEQ ID NO: 32, e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) com a sequência de SEQ ID NO: 35, uma CDR2 LC com a sequência de SEQ ID NO: 37 e uma CDR3 LC com a sequência de SEQ ID nO: 39. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é um fragmento Fab, Fv, scFv,



Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>. Em alguns exemplos de realização, a cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 23 e em que a cadeia leve do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 25. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 23 e 24; e em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 25 e 26. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é o nivolumabe ou pembrolizumabe ou PDR001. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 11; e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 12. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 13; e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 14. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é o cabiralizumabe. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF-1R é o emactuzumabe (RG7155), AMG 820 ou SNDX 6352 (UCB 6352). Em alguns exemplos de realização, um inibidor de CSF1R não anticorpo é usado no lugar do anticorpo anti-CSF1R, tal como uma molécula pequena, por exemplo, JNJ-40346527 (agora PRV-6527), por exemplo, um inibidor de tirosina quinase anti-CSF1R, ou outra modalidade.

[0031] Em alguns exemplos de realização, o sujeito recebeu anteriormente uma terapia com inibidor de PD-1/PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é um mau respondedor ao inibidor de PD-1/PD-L1. Em

alguns exemplos de realização, o sujeito é refratário a um inibidor de PD-1/PD-L1, por exemplo, após pelo menos 2 doses. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é cabiralizumabe e o anticorpo anti-PD-1 é nivolumabe, em que o cabiralizumabe é administrado na dose de 4 mg/kg uma vez a cada duas semanas e o nivolumabe é administrado na dose de 3 mg/kg uma vez a cada duas semanas. Em alguns exemplos de realização, o câncer é câncer pancreático, câncer de ovário, câncer renal, glioma maligno, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC) ou carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço (SCCHN).

#### **BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS E MATERIAIS ADICIONAIS**

[0032] A Figura 1 é uma descrição das coortes de tratamento para os experimentos clínicos descritos nos Exemplos 3 e 4 envolvendo cabiralizumabe (também chamado de FPA008 ou huAB1 na presente invenção) e nivolumabe.

[0033] A Figura 2 mostra critérios de escalonamento de dose para os experimentos clínicos dos Exemplos 3 e 4.

[0034] A Figura 3A mostra o nível de monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> no sangue periférico após uma primeira dose de cabiralizumabe (“cabira”) ou combinação de cabiralizumabe e nivolumabe (“cabira” e “NIVO”). O valor “n” é o número de pacientes que recebem cada dose de cabiralizumabe ou a combinação. A linha tracejada mais alta do gráfico à esquerda da página é do conjunto de dados Cabira 1 mg/kg + NIVO, enquanto a segunda linha tracejada é do conjunto de dados Cabira 2 mg/kg + NIVO, enquanto a terceira linha sólida mais alta é do conjunto de dados Cabira 2 mg/kg. As linhas restantes geralmente se sobrepõem ao gráfico. A Figura 3B mostra o nível de monócitos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> no sangue periférico em uma expansão de dose de 173 pacientes com câncer após uma primeira dose de 4 mg/kg de cabiralizumabe a cada 2 semanas (Q2W), separados em duas categorias para

“câncer pancreático” e “outros cânceres”. Os níveis de monócitos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> periféricos nos dois grupos de pacientes geralmente se sobrepõem, com a linha “outro câncer” sendo a mais baixa das duas linhas no dia 0 e a mais alta das duas no dia 14.

[0035] A Figura 4 mostra um gráfico de radar da responsividade de pacientes com câncer pancreático a uma combinação de 4 mg/kg de cabiralizumabe e 3 mg/kg de nivolumabe a cada duas semanas. As três linhas inferiores correspondem a pacientes com uma resposta parcial confirmada. Como mostrado, a carga tumoral nesses três pacientes cai em pelo menos 30% dentro de 50 a 100 dias após o início do tratamento. A linha acima destes 3 corresponde a um paciente tratado além da doença progressiva; a próxima linha superior corresponde a um paciente com doença estável e as linhas acima da linha zero do gráfico correspondem a pacientes com doença progressiva, exceto para um possuindo doença estável.

[0036] A Figura 5 mostra uma tomografia de fígado de um paciente cujo câncer pancreático foi metastizado para o fígado com imagens tiradas após 4 regimes quimioterápicos diferentes, mas antes do tratamento com uma combinação de 4 mg/kg de cabiralizumabe e 3 mg/kg de nivolumabe a cada duas semanas (linha basal; outubro 2016) e após o tratamento com a combinação cabiralizumabe/nivolumabe (-75%; junho de 2017). O exame mostra uma queda de 75% na carga tumoral, medida como uma redução no tamanho das metástases hepáticas de 36 mm de diâmetro.

[0037] As Figuras 6A e B juntas mostram um diagrama das coortes de pacientes em um estudo de Fase Ia/Ib de monoterapia com cabiralizumabe (Fig. 6A) e a combinação cabiralizumabe com nivolumabe (Fig. 6B) em pacientes com tumores sólidos avançados. O estudo do tratamento combinado foi iniciado após as doses correspondentes de monoterapia serem consideradas toleráveis. Abreviações: IV = intravenosa; NSCLC = câncer

pulmonar de células não pequenas; Q2W = a cada 2 semanas; RCC = carcinoma de células renais; SCCHN = carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço.

[0038] A Figura 7 mostra a carga de mutação tumoral (TMB), determinada pelo sequenciamento de RNA, (a correspondência com os valores de TMB obtidos por um ensaio *Foundation One*® CDx® da Foudation Medicine, Inc. é mostrada conforme descrito na presente invenção), em pacientes que recebem cabiralizumabe mais nivolumabe, discriminados por tipo de tumor. O gráfico mostra o número de mutações de pareamento errado (*mismatch*) para pacientes individuais (pontos cinzentos) e para os pacientes em cada grupo de tumor. A seta à esquerda é a linha de corte de 200 mutações *missense* totais, conforme determinado por WES, que corresponde a uma TMB de 10 mutações *mismatch* por megabase, conforme determinado pelo ensaio *Foundation Medicine Foundation One*® CDx® usado no ensaio clínico CM026 (veja Szustakowski *et al.* Apresentado na Reunião Anual da AACR 2018; 14 a 18 de abril de 2018; Chicago. Resumo 5528). NSCLCn significa NSCLC *naïve* de PD-1, enquanto NSCLCr representa NSCLC com resistência nova ou adquirida.

[0039] A Figura 8 ilustra que foram observadas alterações dose-dependentes em CSF-1 periférico e nos monócitos não clássicos com cabiralizumabe  $\geq 4$  mg/kg e nivolumabe. A Figura 8A mostra a concentração de CSF-1 em ng/mL no sangue periférico em 0-30 dias após o início do tratamento com 1, 2, 4, ou 6 mg/kg cabiralizumabe mais 3 mg/kg nivolumabe Q2W, indicando que o CSF-1 aumentou nos pacientes tratados com doses de cabiralizumabe  $\geq 4$  mg/kg + nivolumabe a 3 mg/kg Q2W. A Figura 8B mostra a concentração no sangue periférico de monócitos não clássicos (CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup>) 0-30 dias após o início do tratamento com 1, 2, 4 ou 6 mg/kg de cabiralizumabe mais 3 mg/kg de nivolumabe Q2W, mostrando depleção urgente dos monócitos não clássicos em pacientes tratados com doses de cabiralizumabe  $\geq 4$  mg/kg +

nivolumabe a 3 mg/kg Q2W.

[0040] A Figura 9 ilustra que as alterações dependentes do cronograma no CSF-1 periférico e nos monócitos não clássicos apresentaram cinética ideal com o regime Q2W. A Figura 9A mostra a concentração de CSF-1, enquanto a Figura 9B mostra a concentração de monócitos não clássica, comparando um esquema de dosagem Q2W com um Q3W da combinação de cabiralizumabe mais nivolumabe. A Figura 9A mostra que os resultados do CSF-1 foram semelhantes com os regimes Q2W e a cada 3 semanas (Q3W), com exceção de 1 paciente tratado com o regime Q3W, cujos níveis de CSF-1 não aumentaram. A Figura 9B mostra que os monócitos não clássicos diminuíram consistentemente com o regime Q2W, mas variaram com o regime Q3W.

[0041] A Figura 10 mostra que a expressão de ligantes de CSF-1R e genes pró-inflamatórios aumentou em tumores de respondedores, mas não em não respondedores. As Figuras 10A e 10B mostram gráficos de níveis de expressão de vários marcadores basais do pré-tratamento (sombreamento claro) e após 4 semanas de tratamento (sombreamento escuro) em respondedores (Figura 10A) e não respondedores (Figura 10B) tratados com cabiralizumabe mais nivolumabe. A Figura 10A mostra que aumentos significativos na expressão de ligantes de CSF-1R e marcadores pró-inflamatórios foram observados em pacientes que responderam ao tratamento com cabiralizumabe + nivolumabe. A Figura 10B mostra que uma diminuição no CSF1R foi a única alteração significativa observada nos pacientes que não responderam. FPKM = fragmentos por kilobase de transcrição por milhão de leituras mapeadas. A análise de pré-tratamento e em tratamento inclui 133 amostras de pré-tratamento e 55 sob tratamento. As setas indicam mudanças estatisticamente significativas determinadas pelo pacote *DSEq2* nos critérios  $R > \text{alteração de 2 vezes e } < 0,05 \text{ FDR}$ .

[0042] A Figura 11 mostra que a expressão de genes associados a células B, células T CD8<sup>+</sup> e ativação de células T CD8<sup>+</sup> aumentou nos tumores de respondedores, mas não nos não respondedores. As Figuras 11A e 11B mostram gráficos de níveis de expressão de marcadores adicionais nos tempos basais do pré-tratamento (sombreamento claro) e após 4 semanas de tratamento (sombreamento escuro) em respondedores (Figura 11A) e não respondedores (Figura 11B) tratados com cabiralizumabe mais nivolumabe. A Figura 11A mostra que aumentos significativos na expressão de genes associados às células T CD8<sup>+</sup> e assinaturas de receptor inibidor de células T CD8<sup>+</sup> citolíticas foram observados em pacientes que responderam à combinação. FPKM = fragmentos por kilobase de transcrição por milhão de leituras mapeadas. A análise de pré-tratamento e em tratamento inclui 133 amostras de pré-tratamento e 55 sob tratamento. As setas indicam mudanças estatisticamente significativas determinadas pelo pacote *DSeq2* nos critérios  $R > \text{alteração de 2 vezes e } < 0,05 \text{ FDR}$ .

[0043] A Figura 12 mostra que os macrófagos CSF1R e M2 diminuíram nos tumores de pacientes tratados com cabiralizumabe e nivolumabe. Especificamente, CSF1R e CD163, que são marcadores de macrófagos M2, mostraram diminuições pronunciadas em relação aos valores basais no dia 28 do tratamento, conforme mostrado nos painéis esquerdo e central do gráfico. O CD68, que é um marcador para os macrófagos M1 e M2, diminuiu em menor extensão. No gráfico, “n” é igual ao número de amostras de pacientes testadas. O gráfico não mostra aumentos nos níveis de marcador acima de 200%. Foram observados aumentos superiores a 200% no CSF1R em 5 pacientes, aumento de > 200% no CD163 em 7 pacientes e aumento > 200% no CD68 em 6 pacientes.

[0044] A Figura 13 mostra que as células T efetoras CD8<sup>+</sup> aumentaram nos tumores de pacientes tratados com cabiralizumabe e

nivolumabe. O gráfico mostra a variação percentual a partir do basal para 52 pacientes.

[0045] A Figura 14 exibe imagens do pulmão de um paciente fortemente pré-tratados com câncer pancreático MSS tratado com uma combinação de cabiralizumabe e nivolumabe tanto antes do tratamento (Fevereiro de 2017; lesões indicadas por setas brancas na imagem) e depois de vários meses de tratamento (Julho de 2017). As imagens mostram uma resposta durável ao tratamento no pulmão. O paciente é um homem de 63 anos de idade que recebeu 4 regimes quimioterápicos anteriores (adjuvante FOLFIRINOX, FOLFIRINOX, capecitabina, gencitabina mais nab-paclitaxel). O paciente obteve uma resposta parcial com uma melhor mudança na carga tumoral de -50%. Os níveis de CA19-9 caíram 96%. Em novembro de 2017, a resposta do paciente estava em andamento.

#### **DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO**

[0046] Macrófagos associados ao tumor (TAMs) estão implicados na patogênese de muitos cânceres e se correlacionam com um mau prognóstico. A inibição de CSF1R pode reduzir TAMs imunossupressores em modelos de camundongos e tumores humanos. Vide, por exemplo, Ries *et al.*, 2014, *Cancer Cell*, 25: 846-859; Pyontech *et al.*, 2013, *Nature Med.*, 19: 1264-1272; e Zhu *et al.*, 2014, *Cancer Res.*, 74: 5057-5069. A inibição de molécula pequena de CSF1R obtém sinergia com bloqueio de ponto de controle (*checkpoint*) em um modelo de tumor pancreático. Vide, Zhu *et al.*, 2014, *Cancer Res.*, 74: 5057-5069. Embora não se pretenda ater-se a qualquer teoria específica, a presente invenção é direcionada aos métodos para tratar tumores que podem ter tanto TAMs que expressam CSF1R como células T que expressam PD1, por exemplo, células T CD8<sup>+</sup>, e serão sensíveis à terapia combinada com um anticorpo anti-CSF1R e um inibidor de PD-1/PD-L1. Em alguns casos, os tumores que têm tanto TAMs que expressam CSF1R como

células T CD8<sup>+</sup> que expressam PD-1 podem ser resistentes à monoterapia com PD-1/PD-L1, mas devem ser sensíveis à terapia combinada. Por exemplo, sem pretender ater-se a qualquer teoria específica, os tumores que possuem altos níveis de TAMs que expressam CSF1R, que estão suprimindo células T que expressam PD-1, por exemplo, células T CD8<sup>+</sup>, podem ser sensíveis à terapia combinada, por exemplo, porque a inibição de TAMs com um anticorpo anti-CSF1R pode aumentar as células T que expressam PD-1, por exemplo, células T CD8<sup>+</sup>, tornando o tumor sensível a um inibidor de PD-1/PD-L1. Por conseguinte, a presente invenção fornece métodos para tratar o câncer, compreendendo a administração de um anticorpo anti-CSF1R e um anticorpo PD-1 em um regime de dosagem específico identificado por meio de ensaios clínicos de Fase Ia/b.

#### **DEFINIÇÕES**

[0047] A menos que definido de outra forma, os termos científicos e técnicos utilizados em conexão com a presente invenção devem ter os significados que são comumente entendidos pelos especialistas na técnica. Além disso, a menos que de outro modo exigido pelo contexto, os termos no singular devem incluir o plural e os termos no plural devem incluir o singular.

[0048] As técnicas exemplares utilizadas em conexão com DNA recombinante, síntese de oligonucleotídeos, cultura de tecido e transformação (por exemplo, eletroporação, lipofecção), reações enzimáticas e técnicas de purificação são as conhecidas no estado da técnica. Muitas dessas técnicas e procedimentos estão descritos, por exemplo, em Sambrook *et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2ª edição, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1989)), entre outros. Além disso, as técnicas conhecidas para sínteses químicas, análises químicas, preparação farmacêutica, formulação e entrega e tratamento de pacientes também são as conhecidas no estado da técnica.



[0049] No presente pedido, o uso de “ou” significa “e/ou”, a menos que indicado de outra forma. No contexto de uma reivindicação múltipla dependente, o uso de “ou” refere-se novamente a mais de uma reivindicação anterior independente ou dependente, somente na alternativa. Além disso, termos como “elemento” ou “componente” abrangem elementos e componentes que compreendem uma unidade e elementos e componentes que compõem mais de uma subunidade, a menos que especificamente estabelecido de outra forma.

[0050] Conforme descrito no presente pedido, qualquer faixa de concentração, faixa de porcentagem, faixa de razão ou faixa de número inteiro deve ser entendida de modo a incluir o valor de qualquer número inteiro dentro da faixa citada e, quando apropriado, frações da mesma (como um décimo e um centésimo de um número inteiro), a menos que indicado de outra forma.

[0051] As unidades, prefixos e símbolos são indicados em sua forma aceita pelo Sistema Internacional de Unidades (SI). Os intervalos numéricos incluem os números que definem o intervalo. Os títulos fornecidos no presente pedido não são limitações dos vários aspectos da divulgação, que podem ser obtidos por referência ao relatório descritivo como um todo. Em vez disso, os títulos das seções aqui utilizados são apenas para fins organizacionais.

[0052] Assim, os termos definidos imediatamente abaixo são definidos de forma mais completa com referência ao relatório descritivo como um todo.

[0053] Todas as referências aqui citadas, incluindo patentes e publicações, são integralmente incorporadas ao presente por referência e para qualquer finalidade.

[0054] Conforme utilizado na presente divulgação, os seguintes termos, a menos que indicado de outra forma, devem ser entendidos com

tendo os seguintes significados:

“Administração” refere-se à introdução física de uma composição compreendendo um agente terapêutico para um sujeito, utilizando qualquer um dos vários métodos e sistemas de administração conhecidos pelos especialistas na técnica. As vias de administração para o anticorpo anti-PD-1 Ab e/ou o anticorpo anti-PD-L1 Ab e anti-CSF-1R incluem vias de administração intravenosa, intramuscular, subcutânea, intraperitoneal, espinal ou outras vias parenterais de administração, por exemplo, por injeção ou infusão. A frase “administração parenteral”, conforme utilizada na presente invenção, significa modos de administração diferentes da administração enteral e tópica, geralmente por injeção, e inclui, sem limitação, a injeção intravenosa, intramuscular, intra-arterial, intratecal, intralinfática, intralesional, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, injeção e infusão intraperitoneal, transtraceal, subcutânea, subcuticular, intra-articular, subcapsular, subaracnóidea, intraespinal, epidural e intraesternal, bem como a eletroporação *in vivo*. As vias não parenterais incluem uma via de administração tópica, epidérmica ou mucosa, por exemplo, por via oral, intranasal, vaginal, retal, sublingual ou tópica. A administração também pode ser realizada, por exemplo, uma vez, várias vezes e/ou durante um ou mais períodos prolongados.

[0055] O termo “receptor do fator 1 estimulador de colônia” e “CSF1R” ou “CSF-1R” refere-se no presente pedido ao CSF1R humano completo, que inclui o ECD N-terminal, o domínio transmembrana e o domínio tirosina-quinase intracelular, quer com ou sem uma sequência líder N-terminal, a menos que seja claramente expressa de outra forma (por exemplo, “CSF1R murino,” ou “ECD CSF1R,” etc). Em alguns exemplos de realização, o CSF1R tem a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 (maduro, sem sequência sinal) ou SEQ ID NO: 2 (precursor, com a sequência sinal).

[0056] Um “anticorpo que se liga ao CSF1R” ou um “anticorpo

anti-CSF1R”, tal como referido no presente documento, é um anticorpo que se liga ao CSF1R e que pode bloquear a ligação do CSF1R a um ou a ambos os seus ligantes, CSF-1 e IL-34.

[0057] O termo “proteína de morte celular programada 1” e “PD-1” refere-se a uma proteína PD-1 humana completa (de comprimento total), a menos que seja claramente expresso de outra forma (por exemplo, “PD-1 murina” e similares). A PD-1 é predominantemente expressa em células T previamente ativadas *in vivo* e se liga a dois ligantes, PD-L1 e PD-L2. A sequência da PD-1 completa pode ser encontrada no número de acesso GenBank U64863. Em alguns exemplos de realização, a PD-1 tem a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 (precursora, com a sequência sinal) ou SEQ ID NO: 20 (madura, sem sequência sinal).

[0058] Os termos “ligante 1 de morte celular programada 1” e “PD-L1” (também conhecido com PD-L1; B7 homólogo-1; B7-H1; ou CD274) e “Ligante-2 morte celular programada “ e “PD-L2”; (também conhecido com B7-DC; ou CD273) são dois ligantes de glicoproteína de superfície celular para PD-1 que regula negativamente a ativação de células T e secreção de citocina mediante ligação a PD-1. O termo se refere ao PD-L1 humano completo (de comprimento total) e PD-L2 humano, menos que seja especificado de outro modo. A sequência de PD-L1 completa pode ser encontrada no número de acesso GenBank Q9NZQ7. Em alguns exemplos de realização, PD-L1 tem a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 (precursora, com a sequência sinal) ou SEQ ID NO: 22 (madura, sem sequência sinal).

[0059] “Antígeno-4 de Linfócitos T Citotóxicos” e “CTLA-4” referem-se a um receptor imunoinibitório pertencente à família de CD28. Os termos referem-se à proteína humana completa, a menos que seja especificado de outra forma. CTLA-4 é expresso exclusivamente em células T *in vivo*, e se liga a dois ligantes, CD80 e CD86 (também chamados de B7-1 e

B7-2, respectivamente). A sequência de CTLA-4 completa pode ser encontrada sob o número de acesso no GenBank AAB59385.

[0060] O termo “inibidor de PD-1/PD-L1” refere-se a um componente que rompe via de sinalização de PD-1/PD-L1. Em algumas realizações, o inibidor inibe a via de sinalização PD-1/PD-L1 por ligação ao PD-1 e/ou PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o inibidor também se liga ao PD-L2. Em alguns exemplos de realização, um inibidor de PD-1/PD-L1 bloqueia ligação de PD-1 a PD-L1 e/ou PD-L2. Tais inibidores podem ser, por exemplo, um anticorpo, uma proteína de fusão ou um inibidor de molécula pequena da via de sinalização de PD-1/PD-L1.

[0061] O termo “anticorpo que inibe PD-1” refere-se a um anticorpo que se liga a PD-1 ou se liga a PD-L1 e, assim, inibe sinalização de PD-1 e/ou PD-L1. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo que inibe PD-1 se liga a PD-1 e bloqueia a ligação de PD-L1 e/ou PD-L2 a PD-1. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo que inibe PD-1 se liga a PD-L1 e bloqueia a ligação de PD-1 a PD-L1.

[0062] “PD-L1 positivo”, como usado no presente pedido, pode ser usado de forma intercambiável com “expressão de PD-L1 de pelo menos cerca de 5%”. A expressão de PD-L1 pode ser medida por quaisquer métodos conhecidos no estado técnica. Em alguns exemplos de realização, a expressão de PD-L1 é medida por IHQ automatizada. Um tumor PD-L1 positivo pode, dessa forma, ter pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, ou pelo menos cerca de 20% de células tumorais que expressam PD-L1 conforme medido por IHQ automatizada. Em determinados exemplos de realização, “PD-L1 positivo” significa que existe pelo menos 100 células que expressam PD-L1 sobre a superfície das células.

[0063] “PD-L2 positivo”, como usado no presente pedido, pode ser usado de forma intercambiável com “expressão de PD-L2 de pelo menos cerca

de 5%”. A expressão de PD-L2 pode ser medida por quaisquer métodos conhecidos no estado técnica. Em alguns exemplos de realização, a expressão de PD-L2 é medida por IHQ automatizada. Um tumor PD-L2 positivo pode, dessa forma, ter pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, ou pelo menos cerca de 20% de células tumorais que expressam PD-L2 conforme medido por IHQ automatizada. Em determinados exemplos de realização, “PD-L2 positivo” significa que existe pelo menos 100 células que expressam PD-L2 sobre a superfície das células.

[0064] Com referência aos anticorpos anti-CSF1R, o termo “bloqueia a ligação de” um ligante, tal como CSF1 e/ou IL-34, e suas variantes gramaticais, são utilizados para se referirem à capacidade de inibir a interação entre CSF1R e um ligante de CSF1R, tal como CSF1 e/ou IL-34. Essa inibição pode ocorrer por qualquer mecanismo, incluindo interferência direta com a ligação do ligante, por exemplo, devido à sobreposição dos sítios de ligação no CSF1R e/ou mudanças conformacionais no CSF1R induzidas pelo anticorpo que alteram a afinidade ao ligante, etc. Anticorpos e fragmentos de anticorpos referidos como “funcionais” são caracterizados por terem tais propriedades. Conforme usado na presente invenção, os termos “CSF1” e “IL-34” se referem às proteínas humanas de comprimento total (completas), a menos que explicitamente indicado de outra forma.

[0065] Com referência a anticorpos anti-PD-1 o termo “blocos de ligação de” um ligante, como PD-L1 e variantes gramaticais do mesmo, são usados para se referir à capacidade de inibir a interação entre PD-1 e um ligante PD-1, como PD-L1. Essa inibição pode ocorrer por qualquer mecanismo, incluindo interferência direta com a ligação do ligante, por exemplo, devido à sobreposição dos sítios de ligação sobre PD-1 e/ou mudanças conformacionais em PD-1 induzidas pelo anticorpo que alteram a afinidade ao ligante, etc. Anticorpos e fragmentos de anticorpos referidos como

“funcionais” são caracterizados por terem tais propriedades. Conforme usado na presente invenção, os termos “PD-1L” referem-se à proteína humanas de comprimento total (completas), a menos que explicitamente indicado de outra forma.

[0066] O termo “anticorpo” conforme utilizado na presente invenção (abreviado como Ab, do inglês *Antibody*) refere-se a uma molécula compreendendo pelo menos a região determinante da complementaridade (CDR) 1, CDR2 e CDR3 de uma cadeia pesada e pelo menos a CDR1, CDR2 e CDR3 de uma cadeia leve, em que a molécula é capaz de se ligar ao antígeno. O termo anticorpo inclui, mas não está limitado a, fragmentos que são capazes de se ligar ao antígeno, tais como Fv, Fv de cadeia única (scFv), Fab, Fab' e (Fab')<sub>2</sub>. O termo também abrange moléculas com cadeias pesadas e/ou leves de comprimento total. O termo anticorpo também inclui, mas não se limita a, anticorpos quiméricos, anticorpos humanizados e anticorpos de várias espécies tais como camundongo, humano, macaco-cinomolgo, etc.

[0067] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo compreende uma região variável de cadeia pesada e uma região variável de cadeia leve. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo compreende pelo menos uma cadeia pesada compreendendo uma região variável de cadeia pesada e pelo menos uma porção de uma região constante de cadeia pesada e pelo menos uma cadeia leve compreendendo uma região variável de cadeia leve e pelo menos uma porção de uma região constante de cadeia leve. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo compreende duas cadeias pesadas, em que cada cadeia pesada compreende uma região variável de cadeia pesada e pelo menos uma porção de uma região constante de cadeia pesada e duas cadeias leves, em que cada cadeia leve compreende uma região variável de cadeia leve e pelo menos uma porção de uma região constante de cadeia leve. Tal como utilizado na presente invenção, um Fv de

cadeia única (scFv), ou qualquer outro anticorpo que compreende, por exemplo, uma única cadeia polipeptídica compreendendo todas as seis CDRs (três CDRs de cadeia pesada e três CDR de cadeia leve) é considerado por possuir uma cadeia pesada e uma cadeia leve. Em alguns destes exemplos de realização, a cadeia pesada é a região do anticorpo que compreende as três CDRs de cadeia pesada e a cadeia leve é a região do anticorpo que compreende as três CDRs de cadeia leve.

[0068] O termo “região variável de cadeia pesada”, conforme utilizado na presente invenção, refere-se a uma região compreendendo a CDR1 de cadeia pesada, a região de arcabouço ou estrutural (*framework* ou FR) 2, a CDR2, a FR3 e a CDR3. Em alguns exemplos de realização, uma região variável de cadeia pesada também compreende pelo menos uma porção FR1 e/ou pelo menos uma porção FR4. Em alguns exemplos de realização, uma CDR1 de cadeia pesada corresponde aos resíduos Kabat 26 a 35; uma CDR2 de cadeia pesada corresponde aos resíduos Kabat 50 a 65; e uma CDR3 de cadeia pesada corresponde aos resíduos Kabat 95 a 102. Vide, por exemplo, *Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest* (1987 e 1991, NIH, Bethesda, Md.); e a Figura 1. Em alguns exemplos de realização, uma CDR1 de cadeia pesada corresponde aos resíduos de Kabat 31 a 35; uma CDR2 de cadeia pesada corresponde aos resíduos Kabat 50 a 65; e uma CDR3 de cadeia pesada corresponde aos resíduos Kabat 95 a 102. Consulte id.

[0069] O termo “região constante de cadeia pesada”, conforme utilizado na presente invenção, refere-se a uma região compreendendo pelo menos três domínios constantes de cadeia pesada, C<sub>H</sub>1, C<sub>H</sub>2 e C<sub>H</sub>3. Exemplos de regiões constantes de cadeia pesada incluem, mas não se limitam a,  $\gamma$ ,  $\delta$  e  $\alpha$ . Exemplos de regiões constantes de cadeia pesada também incluem, mas não se limitam a,  $\epsilon$  e  $\mu$ . Cada região constante pesada corresponde a um

isotipo de anticorpo. Por exemplo, um anticorpo que compreende uma região constante  $\gamma$  é um anticorpo IgG, um anticorpo que compreende uma região constante  $\delta$  é um anticorpo IgD, e um anticorpo que compreende uma região constante  $\alpha$  é um anticorpo IgA. Além disso, um anticorpo que compreende uma região constante  $\mu$  é um anticorpo IgM, e um anticorpo que compreende uma região constante  $\epsilon$  é um anticorpo IgE. Alguns isotipos podem ser subdivididos em subclasses. Por exemplo, os anticorpos do tipo IgG incluem, mas não estão limitados a, anticorpos IgG<sub>1</sub> (compreendendo uma região constante  $\gamma_1$ ), IgG<sub>2</sub> (compreendendo uma região constante  $\gamma_2$ ), IgG<sub>3</sub> (compreendendo uma região constante  $\gamma_3$ ) e IgG<sub>4</sub> (compreendendo uma região constante  $\gamma_4$ ); os anticorpos do tipo IgA incluem, mas não estão limitados a, anticorpos IgA<sub>1</sub> (compreendendo uma região constante  $\alpha_1$ ) e IgA<sub>2</sub> (compreendendo uma região constante  $\alpha_2$ ); e os anticorpos do tipo IgM incluem, mas não estão limitados a, IgM<sub>1</sub> e IgM<sub>2</sub>.

[0070] Em alguns exemplos de realização, uma região constante de cadeia pesada compreende uma ou mais mutações (ou substituições), adições ou deleções que conferem a característica desejada no anticorpo. Uma mutação exemplificativa não limitativa é a mutação S241P na região de dobradiça da IgG<sub>4</sub> (entre domínios constantes C<sub>H1</sub> e C<sub>H2</sub>), que altera o motivo de IgG<sub>4</sub> CPSCP para CPPCP, que é semelhante ao motivo correspondente na IgG<sub>1</sub>. Essa mutação, em alguns exemplos de realização, resulta em um anticorpo IgG<sub>4</sub> mais estável. Vide, por exemplo, Angal *et al.*, *Mol. Immunol.* 30: 105-108 (1993); Bloom *et al.*, *Prot. Sci.* 6: 407-415 (1997); Schuurman *et al.*, *Mol. Immunol.* 38: 1-8 (2001).

[0071] O termo “cadeia pesada” (abreviado como HC) conforme utilizado na presente invenção refere-se a um polipeptídeo compreendendo pelo menos uma região variável de cadeia pesada, com ou sem uma sequência líder. Em alguns exemplos de realização, uma cadeia pesada compreende pelo



menos uma porção de uma região constante de cadeia pesada. Os termos “cadeia pesada completa” ou “cadeia pesada de comprimento total” utilizados na presente invenção referem-se a um polipeptídeo compreendendo pelo menos uma região variável de cadeia pesada, com ou sem uma sequência líder.

[0072] O termo “região variável de cadeia leve”, conforme utilizado na presente invenção, refere-se a uma região compreendendo a CDR1 de cadeia leve, a região de arcabouço ou estrutural (*framework* ou FR) 2, a CDR2, a FR3 e a CDR3. Em alguns exemplos de realização, uma região variável de cadeia leve também compreende uma porção FR1 e/ou FR4. Em alguns exemplos de realização, uma CDR1 de cadeia leve corresponde aos resíduos Kabat 24 a 34; uma CDR2 de cadeia leve corresponde aos resíduos Kabat 50 a 56; e uma CDR3 de cadeia leve corresponde aos resíduos Kabat 89 a 97. Vide, por exemplo, *Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest* (1987 e 1991, NIH, Bethesda, Md.).

[0073] O termo “região constante de cadeia leve”, conforme utilizado na presente invenção, refere-se a uma região compreendendo um domínio constante de cadeia leve, C<sub>L</sub>. Exemplos de regiões constantes de cadeia leve incluem, mas não se limitam a,  $\lambda$  e  $\kappa$ .

[0074] O termo “cadeia leve” (abreviado como LC) conforme utilizado na presente invenção refere-se a um polipeptídeo compreendendo pelo menos uma região variável de cadeia leve, com ou sem uma sequência líder. Em alguns exemplos de realização, uma cadeia leve compreende pelo menos uma porção de uma região constante de cadeia leve. Os termos “cadeia leve completa” ou “cadeia leve de comprimento total” utilizados na presente invenção referem-se a um polipeptídeo compreendendo pelo menos uma região variável de cadeia leve, com ou sem uma sequência líder.

[0075] Um “anticorpo quimérico”, tal como utilizado na presente

invenção, refere-se a um anticorpo que compreende pelo menos uma região variável de uma primeira espécie (tal como camundongo, rato, macaco-cinomolgo, etc) e pelo menos uma região constante de uma segunda espécie (tal como humano, macaco-cinomolgo, etc.). Em alguns exemplos de realização, um anticorpo quimérico compreende pelo menos uma região variável de camundongo e pelo menos uma região constante humana. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo quimérico compreende pelo menos uma região variável de macaco-cinomolgo e pelo menos uma região constante humana. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo quimérico compreende pelo menos uma região variável de rato e pelo menos uma região constante de camundongo. Em alguns exemplos de realização, todas as regiões variáveis de um anticorpo quimérico são de uma primeira espécie e todas as regiões constantes do anticorpo quimérico são de uma segunda espécie.

[0076] Um “anticorpo humanizado” conforme utilizado na presente invenção refere-se a um anticorpo no qual pelo menos um aminoácido em uma região do arcabouço (*framework*) de uma região variável não humana foi substituído pelo aminoácido correspondente de uma região variável humana. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo humanizado compreende pelo menos uma região constante humana ou um fragmento desta. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo humanizado é um Fab, um scFv, um (Fab')<sub>2</sub>, etc.

[0077] Um “anticorpo com CDR enxertado”, tal como utilizado na presente invenção, refere-se a um anticorpo humanizado em que as regiões determinantes da complementaridade (CDRs) de uma primeira espécie (não humana) foram enxertadas nas regiões de arcabouço (*framework* - FR) de uma segunda espécie (humana).

[0078] Um “anticorpo humano” tal como utilizado na presente

invenção refere-se a anticorpos produzidos em seres humanos, anticorpos produzidos em animais não humanos que compreendem genes de imunoglobulina humana, tal como o *XenoMouse*<sup>®</sup>, e anticorpos selecionados utilizando métodos *in vitro*, tal como exibição por fagos, em que o repertório de anticorpos é baseado em sequências de imunoglobulina humana.

[0079] O termo “sequência líder” refere-se a uma sequência de resíduos de aminoácidos localizados na extremidade N-terminal de um polipeptídeo que facilita a secreção de um polipeptídeo a partir de uma célula de mamífero. Uma sequência líder pode ser clivada após a exportação do polipeptídeo a partir da célula de mamífero, formando uma proteína madura. As sequências líderes podem ser naturais ou sintéticas, e podem ser heterólogas ou homólogas à proteína à qual estão ligadas. As sequências líderes exemplares incluem, mas não estão limitadas a, sequências líderes de anticorpos, tais como, por exemplo, as sequências de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 e 4, que correspondem a sequências líderes de cadeia leve e pesada humana, respectivamente. As sequências líderes exemplares não limitativas incluem também sequências líderes de proteínas heterólogas. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo não possui uma sequência líder. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo compreende pelo menos uma sequência líder, que pode ser selecionada a partir das sequências líderes de anticorpos nativos e sequências líderes heterólogas.

[0080] O termo “isolado”, conforme utilizado no presente, refere-se a uma molécula que foi separada de pelo menos alguns dos componentes com os quais normalmente é encontrado na natureza. Por exemplo, um polipeptídeo é referido como “isolado” quando ele é separado de pelo menos alguns dos componentes da célula na qual ele foi produzido. Quando um polipeptídeo é secretado por uma célula após a expressão, separar fisicamente o sobrenadante contendo o polipeptídeo da célula que o produziu é considerado

como “isolando” o polipeptídeo. Da mesma forma, um polinucleotídeo é referido como “isolado” quando não faz parte do polinucleotídeo maior (como, por exemplo, DNA genômico ou DNA mitocondrial, no caso de um polinucleotídeo de DNA) em que é tipicamente encontrado na natureza, ou está separado de pelo menos alguns dos componentes da célula na qual ele foi produzido, por exemplo, no caso de um polinucleotídeo de RNA. Assim, um polinucleotídeo de DNA que está contido em um vetor dentro de uma célula hospedeira pode ser referido como “isolado”, uma vez que esse polinucleotídeo não é encontrado nesse vetor na natureza.

[0081] O termo “nível elevado” significa um nível mais alto de uma proteína em um determinado tecido de um sujeito em relação ao mesmo tecido em um controle, tal como um indivíduo ou indivíduos que não sofrem de câncer ou outra condição aqui descrita. O nível elevado pode ser o resultado de qualquer mecanismo, como o aumento da expressão, aumento da estabilidade, diminuição da degradação, aumento da secreção, diminuição da depuração, etc, da proteína.

[0082] O termo “redução” ou “reduz” significa reduzir o nível de uma proteína em um tecido específico de um sujeito em pelo menos 10%. Em alguns exemplos de realização, um agente, tal como um anticorpo que se liga ao CSF1R ou a um inibidor de PD-1/PD-1L, reduz o nível de uma proteína em um determinado tecido de um indivíduo em pelo menos 15%, pelo menos 20%, pelo menos 25%, pelo menos 30%, a Pelo menos, 35%, pelo menos 40%, pelo menos 45%, pelo menos 50%, pelo menos 55%, pelo menos 60%, pelo menos 65%, pelo menos 70%, pelo menos 75%, pelo menos 80%, em pelo menos 85%, ou pelo menos 90%. Em alguns exemplos de realização, o nível de uma proteína é reduzido em relação ao nível da proteína antes do contato com um agente, tal como um anticorpo que se liga ao CSF1R ou inibidor de PD-1/PD-1L.

[0083] O termo “resistente”, quando usado no contexto de resistência a um agente terapêutico, significa uma resposta diminuída ou falta de resposta a uma dose padrão do agente terapêutico, em relação à resposta do sujeito à dose padrão do agente terapêutico no passado ou em relação à resposta esperada de um sujeito semelhante com um distúrbio semelhante à dose padrão do agente terapêutico. Assim, em alguns exemplos de realização, um indivíduo pode ser resistente ao agente terapêutico, embora o sujeito não tenha sido previamente tratado com tal agente terapêutico, ou o sujeito pode desenvolver resistência ao agente terapêutico após ter respondido ao agente em uma ou mais ocasiões anteriores.

[0084] Os termos “sujeito” e “paciente” são usados aqui de forma alternada para se referirem a um ser humano.

[0085] O termo “amostra”, conforme utilizado no presente, refere-se a uma composição que é obtida ou derivada de um sujeito que contém uma entidade celular e/ou molecular que deve ser caracterizada, quantificada e/ou identificada, por exemplo, com base nas características físicas, bioquímicas, químicas e/ou fisiológicas. Uma amostra exemplar é uma amostra de tecido.

[0086] O termo “amostra de tecido” refere-se a uma coleção de células semelhantes obtidas a partir de um tecido de um sujeito. A fonte da amostra de tecido pode ser o tecido sólido como a partir de uma amostra de órgão ou tecido fresco, congelado e/ou conservado ou a partir de biópsia ou aspirado; sangue ou qualquer componente do sangue, fluidos corporais, tais como líquido, líquido amniótico, fluido peritoneal líquido sinovial ou líquido intersticial; células a partir de qualquer momento da gestação ou desenvolvimento do sujeito. Em alguns exemplos de realização, uma amostra de tecido é uma amostra de tecido de biópsia sinovial e/ou uma amostra de líquido sinovial. Em alguns exemplos de realização, uma amostra de tecido é uma amostra de líquido sinovial. A amostra de tecido também pode ser células

primárias ou cultivadas e linhagens de células. Opcionalmente, a amostra de tecido é obtida a partir de um tecido/órgão doente. A amostra de tecido pode conter compostos que não estão naturalmente misturadas com o tecido na natureza, tais como conservantes, anticoagulantes, tampões, fixadores, nutrientes, antibióticos e similares. Uma “amostra de controle” ou “tecido de controle”, conforme utilizado na presente invenção, refere-se a uma amostra, célula ou tecido obtido a partir de uma fonte conhecida, ou acreditada, que não sofre da doença para a qual o sujeito está sendo tratado.

[0087] Para os propósitos da presente invenção, “corte” ou “secção” de uma amostra de tecido significa uma parte ou pedaço de uma amostra de tecido, por exemplo, uma fina fatia de tecido ou células cortadas a partir de uma amostra de tecido sólido.

[0088] O termo “câncer” é usado no presente pedido para se referir a um grupo de células que exibem níveis anormalmente altos de proliferação e crescimento. Um câncer pode ser benigno (também referido como um tumor benigno), pré-maligno ou maligno. As células cancerosas podem ser células cancerosas sólidas ou células cancerosas leucêmicas. O termo “crescimento tumoral” é usado no presente pedido para se referir a proliferação ou crescimento por uma célula ou células que compreendem um câncer que leva a um correspondente aumento no tamanho ou extensão do câncer.

[0089] Exemplos de câncer incluem, mas não estão limitados a, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcomas e leucemia. Exemplos não limitantes mais específicos desses cânceres incluem câncer de células escamosas, câncer de pulmão de células pequenas, câncer de glândula pituitária, câncer esofágico, astrocitoma, sarcoma de tecido mole, câncer de pulmão de células não pequenas (incluindo câncer de pulmão de células não pequenas escamosas), adenocarcinoma de pulmão, carcinoma escamoso de pulmão,

câncer de peritônio, câncer hepatocelular, câncer gastrointestinal, câncer pancreático, câncer de glioblastoma cervical, câncer ovariano, câncer de fígado, câncer de bexiga, hepatoma, câncer de mama, câncer de cólon, câncer colorretal, carcinoma endometrial ou uterino, carcinoma de glândula salivar, câncer de rim, carcinoma de célula renal, câncer de fígado, câncer de próstata, câncer de vulva, câncer de tireoide, carcinoma hepático, câncer de cérebro, câncer de endométrio, câncer de testículo, colangiocarcinoma, carcinoma de vesícula biliar, câncer gástrico, melanoma e vários tipos de câncer de cabeça e pescoço (incluindo carcinoma de células escamosas da cabeça e pescoço).

[0090] O termo “câncer recorrente” refere-se a um câncer que retornou após um regime de tratamento anterior, após o qual houve um período de tempo durante o qual o câncer não pôde ser detectado.

[0091] O termo “câncer progressivo” é um câncer que aumentou de tamanho ou o tumor se alastrou desde o início de um regime de tratamento. Em determinados exemplos de realização, um câncer progressivo é um câncer que aumentou de tamanho ou o tumor se espalhou por pelo menos 10%, pelo menos 20%, pelo menos 30%, pelo menos 40%, ou pelo menos 50% desde o início de um regime de tratamento.

[0092] Em alguns exemplos de realização, o sujeito tem câncer pancreático. “Câncer pancreático” inclui, por exemplo, adenocarcinoma pancreático ductal (PDAC), câncer pancreático avançado, incluindo câncer pancreático localmente avançado, câncer pancreático metastático, por exemplo, como o câncer pancreático metastizado para outros órgãos como o fígado e/ou pulmão, e câncer pancreático com microssatélites estáveis (MSS).

[0093] A título de exemplo, um “agente anticâncer” promove a regressão do câncer em um sujeito. Em alguns exemplos de realização, uma quantidade terapeuticamente eficaz do fármaco promove a regressão do câncer a ponto de eliminar o câncer. “Promover a regressão do câncer”

significa que a administração de uma quantidade eficaz da droga, isoladamente ou em combinação com um agente anticâncer, resulta em uma redução no crescimento ou tamanho do tumor, necrose do tumor, uma diminuição na gravidade de pelo menos um sintoma da doença, um aumento na frequência e duração dos períodos livres de sintomas da doença, ou uma prevenção de comprometimento ou deficiência devido à aflição da doença. Além disso, os termos “eficaz” e “eficácia”, em relação a um tratamento, inclui tanto a eficácia farmacológica como a segurança fisiológica. A eficácia farmacológica refere-se à capacidade da droga em promover a regressão do câncer no paciente. A segurança fisiológica refere-se ao nível de toxicidade, ou outros efeitos fisiológicos adversos na célula, órgão e/ou nível de organismo (efeitos adversos) resultantes da administração da droga.

[0094] A título de exemplo para o tratamento de tumores, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um agente anticâncer pode inibir o crescimento celular, inibir o crescimento tumoral ou reduzir o tamanho do tumor por pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, por pelo menos cerca de 15%, pelo menos cerca de 20%, por pelo menos cerca de 25%, por pelo menos cerca de 30%, por pelo menos cerca de 40%, por pelo menos cerca de 50%, por pelo menos cerca de 60%, por pelo menos cerca de 70%, ou por pelo menos cerca de 80%, por pelo menos cerca de 90%, por pelo menos cerca de 95%, ou por pelo menos 100% em relação aos sujeitos não tratados, em relação ao nível basal ou, em determinados exemplos de realização, em relação aos pacientes tratados com uma terapia padrão de cuidados. Em outros exemplos de realização da invenção, a regressão tumoral pode ser observada e continua por um período de pelo menos cerca de 20 dias, pelo menos cerca de 40 dias ou pelo menos cerca de 60 dias. Não obstante destas últimas medições de eficácia terapêutica, a avaliação de drogas imunoterápicas também deve levar em conta padrões de resposta “imune-relacionada”.



[0095] A título de exemplo para o tratamento de tumores, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um agente anticâncer pode inibir o crescimento celular ou o crescimento tumoral por pelo menos cerca de 20%, por pelo menos cerca de 30%, por pelo menos cerca de 40%, por pelo menos cerca de 50%, por pelo menos cerca de 60%, por pelo menos cerca de 70% ou por pelo menos cerca de 80% em relação aos sujeitos não tratados.

[0096] Em outros exemplos de realização da invenção, a regressão tumoral pode ser observada e continua por um período de pelo menos cerca de 20 dias, pelo menos cerca de 40 dias ou pelo menos cerca de 60 dias. Não obstante destas últimas medições de eficácia terapêutica, a avaliação de drogas imunoterápicas também deve levar em conta padrões de resposta “imune-relacionada”.

[0097] Um padrão de resposta “imune-relacionada” refere-se a um padrão de resposta clínica frequentemente observado em pacientes com câncer tratados com agentes imunoterápicos que produzem efeitos antitumorais induzindo respostas imunes específicas para câncer ou modificando processos imunes nativos. Este padrão de resposta é caracterizado por um efeito terapêutico benéfico que se segue a um aumento inicial na massa tumoral ou surgimento de novas lesões, que na avaliação dos agentes quimioterápicos tradicionais seria classificado como progressão da doença e seria sinônimo de fracasso da droga. Consequentemente, uma avaliação adequada de agentes imunoterápicos pode necessitar de monitoramento em longo prazo dos efeitos desses agentes sobre a doença alvo.

[0098] Um “agente quimioterápico” é um composto químico útil no tratamento do câncer. Exemplos de agentes quimioterápicos incluem, mas não se limitam a, agentes alquilantes, tais como tiotepa e ciclofosfamida Cytosan®; sulfonatos de alquila, tais como busulfan, improsulfan e piposulfan; aziridinas,

tais como benzodopa, carboquona, meturedopa e uredopa; etilenoiminas e metilamelaminas, incluindo altretamina, trietilenomelamina, trietilenofosforamida, trietilenotiofosforamida e trimetilolomelamina; acetogeninas (especialmente bulatacina e bulatacinona); camptotecina (incluindo o análogo sintético topotecan; briostatina; calistatina; CC-1065 (incluindo seus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina e bizelesina); criptoficinas (particularmente a criptoficina 1 e criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluindo o análogo sintético, KW-2189 e CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; sarcodictiina; espongistatina; mostardas de nitrogênio, tais como clorambucil, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, cloridrato óxido de mecloretamina, melfalan, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostarda de uracila; nitrossuréis, tais como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina; antibióticos, tais como os antibióticos de enedina (por exemplo, caliqueamicina, especialmente caliqueamicina gama1I e caliquemicina omegal1; vide, por exemplo, Agnew, *Chem. Intl. Ed. Engl.*, 33: 183-186 (1994); dinemicina, incluindo dinemicina A; biofosfonados, tais como clodronato, esperamicina; bem como neocarzinostatina cromóforo e cromóforos antibióticos de enedina cromoproteína relacionados), aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicin, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina doxorubicina (incluindo Adriamycin<sup>®</sup>, morfolino-doxorubicina, cianomorfolino-doxorubicina, 2-pirrolino-doxorubicina e desoxidoxorubicina), epirubicina, esorubicina, idarubicina, marcelomicina, mitomicinas como, por exemplo, mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; antimetabólitos, tais como

metotrexato e 5-fluorouracil (5-FU); análogos de ácido fólico, tais como denopterin, metotrexato, pteropterin, trimetrexato; análogos de purina, tais como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina, tais como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, dideoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos, tais como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestano, mepitioestano, testolactona; anti-adrenais, tais como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reabastecedor de ácido fólico, tal como ácido frolínico; aceglatona; aldofosfamido glicosídeo; ácido aminolevulínico; amsacrina; bestabucil; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diaziquona; elfornitina; acetato de eliptínio; epotilona; etoglucídeo; nitrato de gálio; hidroxiuréia; lentinan; lonidamina; maitansinóides, tais como maitansina e ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidamol; nitacrina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; ácido podofilínico; 2-etilidrazida; procarbazona; PSK® complexo polissacarídico (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxano; rizoxin; sizofiran; espirogermânio; ácido tenuazônico; triaziquona; 2,2',0,2"-triclorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A e anguidina); uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobroman; gacitosina; arabinosida ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxóides, tais como, paclitaxel Taxol® (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), formulação de nanopartículas de paclitaxel construídas em albumina Abraxane® (*American Pharmaceutical Partners, Schaumburg*, Illinois), e Taxotere® doxetaxel (*Rhône-Poulenc Rorer*, Antony, França); clorambucil, Gemzar® gencitabina; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platina tais como cisplatina, oxilplatina e carboplatina; vinblastina; platina; etoposida (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; Navelbine® vinorelbina; novantrona; teniposide, edatrexato; daunomicina; aminopterina; xeloda, ibandronato; irinotecano (Camptosar, CPT-11) (incluindo

o regime de tratamento de irinotecano com 5-FU e leucovorina), inibidor de topoisomerase RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); ácido retinóico; capecitabina; combretastatin; leucovorina (LV); oxaliplatina, incluindo o regime de tratamento com oxaliplatina (FOLFOX); inibidores da PKC-alfa, Raf, H-Ras, EGFR (por exemplo, o erlotinibe (por exemplo, Tarceva®) e VEGF-A que reduzem a proliferação celular e os sais, ácidos ou derivados farmacologicamente aceitáveis de quaisquer dos acima.

[0100] Agentes quimioterápicos exemplares não limitantes adicionais incluem agentes anti-hormonais que agem regulando ou inibindo a ação hormonal tal como antiestrógenos e os moduladores seletivos do receptor do estrógeno (SERMs), incluindo, por exemplo, tamoxifeno (incluindo o tamoxifeno Nolvadex®, raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona, e toremifeno Fareston®; inibidores da aromatase que inibem enzima aromatase, que regula a produção do estrógeno nas glândulas adrenais como, por exemplo, 45-imidazoles, aminoglutetimida, acetato de megestrol Megace®, exemestane Aromasin®, formestanie, fadrozole, vorozole Rivor®, letrozole Femara®, e anastrozole Arimidex® e anti-andrógenos, tais como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida e goserelina, bem como troxacitabina um nucleosídeo 1,3-dioxolano análogo a citosina; oligonucleotídeos *antisense*, particularmente aqueles que inibem a expressão dos genes nas vias de sinalização envolvida na proliferação celular aberrante, como, por exemplo, PKC-alfa, Raf e H-Ras; ribozimas, tal como um inibidor da expressão do VEGF (por exemplo, ribozima Angiozyme®) e um inibidor da expressão de HER2, vacinas como as vacinas para terapia gênica, por exemplo, vacina Allovectin®, vacina Leuvectin® e vacina Vaxid®; Proleukin® rIL-2; Lurtotecan®; inibidor da topoisomerase 1; Abarelix® rmRH; Vinorelbina e Esperamicinas (vide Patente US 4.675.187), e sais farmacologicamente aceitáveis, ácidos ou derivados de qualquer um dos compostos acima.

[0101] Um “agente antiangiogênese” ou “inibidor de angiogênese” refere-se a uma substância de peso molecular pequeno, um polinucleotídeo (incluindo, por exemplo, um RNA inibidor (RNAi ou RNAsi)), um polipeptídeo, uma proteína isolada, uma proteína recombinante, um anticorpo, proteínas conjugadas ou proteínas de fusão dos mesmos, que inibem a angiogênese, vasculogênese ou permeabilidade vascular indesejável, tanto diretamente como indiretamente. Deve-se entender que os agentes antiangiogênese incluem aqueles agentes que ligam e bloqueiam a atividade do fator angiogênico ou seu receptor. Por exemplo, um agente antiangiogênese é um anticorpo ou outro antagonista para um agente angiogênico, por exemplo, anticorpos para VEGF-A (por exemplo, bevacizumabe (Avastin®)) ou para o receptor VEGF-A (por exemplo, receptor KDR ou receptor Flt-1), inibidores de anti-PDGFR como Gleevec® (Imatinib Mesylate), moléculas pequenas que bloqueiam sinalização do receptor VEGF (por exemplo, PTK787/ZK2284, SU6668, Sutent®/SU11248 (malato de sunitinibe), AMG706, ou os descritos, por exemplo, no pedido de patente internacional documento WO 2004/113304). Agentes antiangiogênese também incluem inibidores da angiogênese nativos, por exemplo, angiostatina, endostatina, etc. Vide, por exemplo, Klagsbrun e D’Amore (1991) *Annu. Rev. Physiol.* 53:217-39; Streit e Detmar (2003) *Oncogene* 22:3172-3179 (por exemplo, a Tabela 3 listando terapias antiangiogênicas em melanoma maligno); Ferrara & Alitalo (1999) *Nature Medicine* 5(12):1359-1364; Tonini *et al.* (2003) *Oncogene* 22:6549-6556 (por exemplo, a Tabela 2 listando os fatores angiogênicos conhecidos); e Sato (2003) *Int. J. Clin. Oncol.* 8:200-206; e Sato (2003) *Int. J. Clin. Oncol.* 8:200-206 (por exemplo, Tabela 1 que lista agentes antiangiogênicos usados em ensaios clínicos).

[0102] Um “agente inibidor do crescimento” como usado no presente pedido refere-se a um composto ou composição que inibe o

crescimento de uma célula, (como uma célula que expressa VEGF) tanto *in vitro* como *in vivo*. Dessa forma, o agente inibidor do crescimento pode ser aquele que reduz significativamente a porcentagem de células (como células que expressam VEGF) na fase S. Exemplos de agentes inibidores do crescimento incluem, mas não se limitam a, agentes que bloqueiam a progressão do ciclo celular (em um local, exceto na fase S), como agentes que induzem interrupção de G1 e interrupção da fase M. Os bloqueadores clássicos da fase M incluem as vincas (vincristina e vimblastina), taxanos e inibidores da topoisomerase II como doxorrubicina, epirubicina, daunorrubicina, etoposídeo e bleomicina. Esses agentes que interrompem G1 também se espalham na interrupção da fase S, por exemplo, agentes alquilantes de DNA como tamoxifeno, prednisona, dacarbazina, mecloretamina, cisplatina, metotrexato, 5-fluorouracila e ara-C. Informações adicionais podem ser encontradas em Mendelsohn e Israel, eds., *The Molecular Basis of Cancer*, Capítulo 1, intitulado “*Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs*” por Murakami *et al.* (W.B. Saunders, Filadélfia, 1995), por exemplo, pág. 13. Os taxanos (paclitaxel e docetaxel) são drogas anticâncer ambas derivadas do teixo. O docetaxel (Taxotere®, Rhone-Poulenc Rorer), derivado do teixo europeu é um análogo semi-sintético do paclitaxel (Taxol®, Bristol-Myers Squibb). O paclitaxel e docetaxel promovem a montagem de microtúbulos a partir dos dímeros de tubulina e estabilizam os microtúbulos prevenindo a despolimerização, o que resulta na inibição da mitose nas células.

[0103] O termo “composição antineoplásica” refere-se a uma composição útil no tratamento de câncer que compreende pelo menos um agente terapêutico ativo. Exemplos de agentes terapêuticos incluem, mas não se limitam a, por exemplo, agentes quimioterápicos, agentes inibidores do crescimento, agentes citotóxicos, agentes usados na radioterapia, agentes antiangiogênese, agentes imunoterápicos de câncer, agentes apoptóticos,

agentes antitubulina e outros agentes para tratar câncer, como anticorpos anti-HER-2 , anticorpos anti-CD20, um antagonista do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) (por exemplo, um inibidor de tirosina quinase ), inibidor de HER1/EGFR (por exemplo, erlotinibe (Tarceva®), inibidores do fator de crescimento derivado plaquetas (por exemplo, Gleevec®) (Mesilato de Imatinibe), um inibidor de COX-2 (por exemplo, celecoxibe), interferons, inibidores de CTLA-4 ( por exemplo, anticorpo anti-CTLA ipilimumabe (YERVOY®)), inibidores de PD-1 (por exemplo, anticorpos anti-PD-1, BMS-936558), inibidores de PD-L1 (por exemplo, anticorpos anti-PD-1, MPDL3280A), inibidores de PD-L2 (por exemplo, anticorpos, anti-PD-L2 ), inibidores de TIM3 (por exemplo, anticorpos anti-TIM3 ), citocinas, antagonistas (por exemplo, anticorpos neutralizantes) que se ligam a um ou mais dos seguintes alvos ErbB2, ErbB3, ErbB4, PDGFR-beta, BlyS, APRIL, BCMA, PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, TIM3 ou receptor(es) de VEGF, TRAIL/Apo2, e outros agentes químicos orgânicos e bioativos etc. Combinações dos mesmos também são incluídas na invenção.

[0104] Conforme utilizado na presente invenção, o termo “FOLFOX” refere-se a um regime de tratamento de quimioterapia combinada de 5-fluorouracila (5-FU), leucovorina e oxaliplatina.

[0105] Um agente “antagoniza” a atividade do fator quando o agente neutraliza, bloqueia, inibe, anula, reduz e/ou interfere na atividade do fator, incluindo sua ligação a um ou mais receptores quando o fator é um ligante.

[0106] “Tratamento”, como usado no presente pedido, refere-se ao tratamento terapêutico, por exemplo, quando o objetivo é diminuir (atenuar) a condição ou distúrbio patológico alvo, bem como, por exemplo, quando o objetivo é inibir a recorrência da condição ou distúrbio. Em determinados exemplos de realização, o termo “tratamento” abrange qualquer administração

ou aplicação de uma doença terapêutica em um paciente, e inclui inibir ou retardar a doença ou a progressão da doença; aliviando parcial ou totalmente a doença, por exemplo, causando regressão ou restaurando ou reparando uma função perdida, ausente ou defeituosa; estimulando um processo ineficiente; ou fazendo com que o platô da doença tenha uma severidade reduzida. O termo “tratamento” também inclui reduzir a gravidade de qualquer característica fenotípica e/ou reduzir a incidência, grau ou a probabilidade dessa característica. Aqueles que precisam de tratamento incluem aqueles que já estão com o distúrbio, bem como aqueles em risco de recorrência do distúrbio ou aqueles em que uma recorrência do distúrbio deve ser evitada ou desacelerada.

[0107] “Pré-tratamento” ou “nível basal”, ou simplesmente “basal”, tal como usado no presente pedido, refere-se ao estado de um sujeito antes da administração de uma terapia específica, por exemplo, antes da administração de um agente anticâncer, por exemplo, imunoterapia, por exemplo, um Ab anti-PD-1 ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo ou um Ab anti-CSF1R ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo. “Pré-tratamento” pode se referir ao estado de um tratamento de um sujeito não exposto ou a um sujeito que teve uma ou mais terapias anteriores. Consequentemente, é possível que um sujeito possa ser considerado em “pré-tratamento” apesar do sujeito ter recebido alguma forma de tratamento ou terapia em algum momento antes do presente tratamento ou terapia. Além disso, “pré-tratamento” pode se referir a qualquer momento até o momento em que o tratamento é administrado. Por exemplo, “pré-tratamento” pode incluir semanas, dias, horas, minutos ou segundos antes da administração do tratamento. Em um exemplo de realização específico, uma amostra de “pré-tratamento” pode ser coletada de um sujeito imediatamente antes da administração de uma primeira dose do tratamento ou terapia. Os termos “pré-tratamento” e “nível basal” são usados de forma



intercambiável no presente pedido.

[0108] “Em tratamento” como usado no presente pedido, refere-se ao estado de um sujeito que tenha recebido uma ou mais doses iniciais de uma terapia específica, por exemplo, um agente anticâncer, por exemplo, imunoterapia, por exemplo, um Ab anti-PD-1 ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo ou um Ab anti-CSF1R ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo. “Em tratamento” pode se referir a um sujeito que recebeu apenas uma única dose ou a um sujeito que recebeu várias doses do Ab anti-PD-1 ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo ou o Ab anti-CSF1R ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo. Em alguns aspectos, “em tratamento” refere-se a um sujeito que está recebendo um regime em andamento de uma terapia específica, por exemplo, o sujeito está sendo tratado com um Ab anti-PD-1 ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo ou um Ab anti-CSF1R ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo. Em certos exemplos de realização, a amostra “em tratamento” pode ser coletada de um sujeito por volta do dia 1, por volta do dia 2, por volta do dia 3, por volta do dia 4, por volta do dia 5, por volta do dia 6, por volta do dia 7, por volta do dia 8, por volta do dia 9, por volta do dia 10, por volta do dia 11, por volta do dia 12, por volta do dia 13, por volta do dia 14, por volta do dia 15, por volta do dia 16, por volta do dia 17, por volta do dia 18, por volta do dia 19, por volta do dia 20, por volta do dia 21, ou qualquer combinação do mesmo, em que o tratamento é administrado no dia 1. Em certos exemplos de realização, o tratamento é a administração de um Ab anti-PD-1 ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo ou um Ab anti-PD-L1 ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo. Em alguns exemplos de realização, o Ab anti-PD-1 ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo ou o Ab anti-CSF1R ou uma porção de ligação ao antígeno do mesmo é administrado no dia 1 de cada ciclo de 21 dias. Em certos exemplos de realização, a amostra em tratamento é

coletada do sujeito por volta do dia 1, por volta do dia 2, por volta do dia 3, por volta do dia 4, por volta do dia 5, por volta do dia 6, por volta do dia 7, por volta do dia 8, por volta do dia 9, por volta do dia 10, por volta do dia 11, por volta do dia 12, por volta do dia 13, por volta do dia 14, por volta do dia 15, por volta do dia 16, por volta do dia 17, por volta do dia 18, por volta do dia 19, por volta do dia 20 ou por volta do dia 21 do ciclo de 21 dias, ou qualquer combinação dos mesmos. Em uma realização específica, a amostra em tratamento é coletada no dia 1 do ciclo 1, dia 1 do ciclo 2, dia 8 do ciclo 2, no dia 1 do ciclo 4, ou qualquer combinação dos mesmos. Em uma realização, a amostra em tratamento é coletada no dia 8 do ciclo 2.

[0109] Amostras em pré-tratamento e em tratamento podem ser coletadas sob a forma de uma biópsia de tumor (por exemplo, uma Biópsia com Agulha de Grande Calibre), ressecção cirúrgica parcial ou completa, coleta de sangue ou qualquer outro método conhecido na técnica. Em determinados exemplos de realização, os locais do tumor selecionados para a biópsia não receberam radioterapia anterior.

[0110] O termo “imunoterapia” refere-se ao tratamento de um sujeito afligido pela doença ou em risco de contrair ou sofrer de uma reincidência da doença, por um método que compreende induzir, melhorar, suprimir ou de outro modo modificar uma resposta imune.

[0111] Os termos “quantidade eficaz” ou “quantidade terapeuticamente eficaz” referem-se a uma quantidade de um medicamento eficaz para tratar uma doença ou distúrbio em um sujeito. Em alguns exemplos de realização, uma “quantidade eficaz” refere-se a uma quantidade eficaz, nas dosagens e períodos de tempo necessários, para alcançar o resultado profilático ou terapêutico desejado. Uma “quantidade terapeuticamente eficaz” de um anticorpo anti-CSF1R e/ou um inibidor PD-1/PD-L1 da presente invenção pode variar de acordo com fatores como estado da doença, idade,

sexo e peso do indivíduo, e a capacidade do anticorpo em suscitar uma resposta desejada no indivíduo. Uma quantidade terapeuticamente eficaz engloba uma quantidade que é aquela em que qualquer efeito tóxico ou prejudicial do anticorpo seja superado pelos efeitos terapeuticamente benéficos. Em alguns exemplos de realização, a expressão “quantidade eficaz” refere-se a uma quantidade de anticorpo que é eficaz para o tratamento do câncer. Uma “quantidade terapêutica” refere-se a uma dosagem de uma droga que foi aprovada para uso por uma agência reguladora. Uma “quantidade subterapêutica”, como usado no presente pedido, refere-se a uma dosagem de uma droga ou agente terapêutico que é significativamente mais baixa que a dosagem aprovada. A capacidade de um agente terapêutico promover regressão da doença pode ser avaliada com o uso de uma variedade de métodos conhecidos pelos técnicos no assunto, como em sujeitos humanos durante ensaios clínicos, em sistemas de modelo animal preditivos de eficácia em humanos ou avaliando a atividade do agente em ensaios *in vitro*.

[0112] Uma “quantidade profilaticamente eficaz” refere-se a uma quantidade eficaz, nas dosagens e por períodos de tempo necessários, para alcançar o resultado profilático desejado. Tipicamente, mas não necessariamente, uma vez que uma dose profilática é utilizada em indivíduos antes ou no início do estágio inicial da doença, a quantidade profilaticamente eficaz poderia ser menor do que a quantidade terapeuticamente eficaz.

[0113] Um sujeito pode ser caracterizado como tendo uma ou mais “terapias” ou como sendo um sujeito “não exposto a tratamento” (sujeito *naïve* ou virgem de tratamento). Como usado no presente pedido, a menos que indicado de outra forma, uma “terapia anterior” refere-se a qualquer terapia sistêmica anterior para um câncer. Um sujeito “não exposto a tratamento” ou “virgem de tratamento” (*naïve*) é aquele que nunca recebeu qualquer terapia sistêmica anterior na configuração metastática ou adjuvante. Conforme usado

na presente invenção, uma “terapia padrão” ou “tratamento padrão” significa uma terapia considerada a melhor prática atual ou padrão de atendimento para o tratamento de uma doença específica, por exemplo, o câncer pancreático. A eficácia dos métodos de tratamento mencionados no presente pedido pode, por exemplo, ser comparada à da “terapia padrão” atual.

[0114] Como usado no presente pedido, o termo “primeira dose” inclui uma única dose, mas pode ser mais que uma dose, isto é, múltiplas doses (pelo menos duas doses, pelo menos três doses ou mais) que são administradas antes da administração de uma “segunda dose”, se as doses múltiplas forem administradas para determinar a suscetibilidade do paciente para uma terapia com Ab anti-PD-1 ou Ab anti-CSF1R, isto é, a expressão diferencial de certas proteínas (por exemplo, PD-L1). O termo “primeira dose” também pode ser uma dose terapêutica, uma dose mais alta que uma dose terapêutica ou uma dose subterapêutica.

[0115] O termo “segunda dose”, como usado no presente pedido, também pode incluir uma dose única ou doses múltiplas que são administradas após a primeira dose (dose única ou doses múltiplas). A segunda dose pode ser uma dose terapêutica.

[0116] O uso do termo “dose fixa” em relação a uma composição ou método da invenção significa que dois ou mais anticorpos diferentes em uma única composição estão presentes na composição em razões específicas entre si (fixas). Em alguns exemplos de realização, a dose fixa é baseada no peso (por exemplo, mg) dos anticorpos. Em determinados exemplos de realização, a dose fixa é baseada na concentração (por exemplo, mg/mL) dos anticorpos. Em alguns exemplos de realização, a razão é de pelo menos cerca de 1:1, cerca de 1:2, cerca de 1:3, cerca de 1:4, cerca de 1:5, cerca de 1:6, cerca de 1:7, cerca de 1:8, cerca de 1:9, cerca de 1:10, cerca de 1:15, cerca de 1:20, cerca de 1:30, cerca de 1:40, cerca de 1:50, cerca de 1:60, cerca de 1:70,

cerca de 1:80, cerca de 1:90, cerca de 1:100, cerca de 1:120, cerca de 1:140, cerca de 1:160, cerca de 1:180, cerca de 1:200, cerca de 200:1, cerca de 180:1, cerca de 160:1, cerca de 140:1, cerca de 120:1, cerca de 100:1, cerca de 90:1, cerca de 80:1, cerca de 70:1, cerca de 60:1, cerca de 50:1, cerca de 40:1, cerca de 30:1, cerca de 20:1, cerca de 15:1, cerca de 10:1, cerca de 9:1, cerca de 8:1, cerca de 7:1, cerca de 6:1, cerca de 5:1, cerca de 4:1, cerca de 3:1 ou cerca de 2:1 mg do primeiro anticorpo para mg do segundo anticorpo. Por exemplo, a razão de 3:1 de um primeiro anticorpo para um segundo anticorpo pode significar que um frasco pode conter cerca de 240 mg do primeiro anticorpo e 80 mg do segundo anticorpo ou cerca de 3 mg/mL do primeiro anticorpo e 1 mg/mL do segundo anticorpo.

[0117] O uso do termo “dose fixa” no que se refere à composição da invenção significa uma dose que é administrada a um paciente sem considerar o peso ou área de superfície corpórea (BSA) do paciente. A dose fixa, portanto, não é fornecida como uma dose de mg/kg, mas de preferência como uma quantidade absoluta do agente (por exemplo, o anticorpo anti-CSF1R e/ou inibidor de PD-1/PD-L1). Por exemplo, uma pessoa de 60 kg e uma pessoa de 100 kg receberiam a mesma dose da composição (por exemplo, 240 mg de um anticorpo anti-PD-1 e 80 mg de um anticorpo anti-CSF1 R em um frasco de formulação de dosagem fixa única contendo ambos 240 mg de um anticorpo anti-PD-1 e 80 mg de um anticorpo anti-CSF1R (ou dois frascos de formulação de dosagem fixa contendo 120 mg de um anticorpo anti-PD-1 e 40 mg de um anticorpo anti-CSF1R, etc.)).

[0118] O termo “dose baseada no peso”, conforme citada no presente pedido, significa que a dose que é administrada a um paciente é calculada com base no peso do paciente. Por exemplo, quando um paciente com 60 kg de peso corporal requer 3 mg/kg de um anticorpo anti-PD-1 em combinação com 1 mg/kg de um anticorpo anti-CSF1R, pode-se coletar as

quantidades apropriadas do anticorpo anti-PD-1 (isto é, 180 mg) e o anticorpo anti-CSF1R (isto é, 60 mg) de uma só vez a partir de uma formulação de dosagem fixa de razão 3:1 de um anticorpo anti-PD1 e de um anticorpo anti-CSF1R.

[0119] A administração “em combinação com” um ou mais agente(s) terapêutico(s) adicional(ais) inclui a administração simultânea (concomitante) e consecutiva (sequencial) em qualquer ordem.

[0120] Um “veículo farmaceuticamente aceitável” refere-se a um material de preenchimento, diluente, material de encapsulamento, auxiliar de formulação ou auxiliar de enchimento não tóxico, convencional na técnica para uso com um agente terapêutico que em conjunto compreende uma “composição farmacêutica” para a administração a um sujeito. Um veículo farmaceuticamente aceitável não é tóxico para os receptores nas dosagens e concentrações utilizadas e é compatível com outros ingredientes da formulação. O veículo farmaceuticamente aceitável é adequado para a formulação empregada. Por exemplo, se o agente terapêutico for administrado por via oral, o veículo pode ser uma cápsula de gel. Se o agente terapêutico for administrado por via subcutânea, o veículo idealmente não é irritável para a pele e não causa reação no local da injeção.

[0121] O termo “refratário” conforme aplicado a um tratamento significa uma falta de resposta clínica parcial ou completa para aquele tratamento. Por exemplo, pacientes podem ser considerados refratários para um inibidor de PD-1 ou PD-L1 se não apresentarem pelo menos uma resposta parcial após receber pelo menos 2 doses do inibidor.

[0122] Expressões como “determinar um nível de expressão” ou “detectar um aumento do nível de expressão” e expressões semelhantes pretendem, de forma ampla, abranger no pedido a determinação ou a detecção do nível de expressão por outros, e, por exemplo, a revisão dos resultados de

tal determinação ou detecção por terceiros, além de conduzir a determinação ou detecção diretamente.

[0123] O termo “carga de mutação tumoral” ou “TMB” é uma medida do número total de mutações por área codificante do genoma do tumor. Conforme usado no presente pedido, a TMB é medida a partir de uma amostra de biópsia usando o teste analítico validado pela *Foundation Medicine*, o *Foundation One*® CDx® e relatado como “*mismatches/megabase*” ou “mutações/megabase” (ambos os termos sendo usados de forma intercambiável) ou é medido usando sequenciamento total do exoma (WES) e relatado como um número total de mutações *missense*.

[0124] Os termos “microsatélites instáveis” ou “instabilidade de microsatélites” ou “MSI” referem-se a um tumor caracterizado por mutações em um ou mais genes de reparo de Erro de Pareamento (*Mismatch*) de DNA. Mutações nesses genes podem causar mutações em sequências de DNA microsatélites e genes próximos a essas sequências. O termo “microsatélites estáveis” ou “MSS” refere-se a um tumor que não tem instabilidade de microsatélites (MSI) ou que não é caracterizado por apresentar mutações nos genes de genes de reparo de Erro de Pareamento de DNA. O *status* de MSS pode ser confirmado, por exemplo, com base nos métodos de sequenciamento ou PCR.

#### **ANTICORPOS ANTI-CSF1R**

[0125] Exemplos de anticorpos anti-CSF1R que são utilizados na presente invenção compreendem as CDRs de cadeia pesada e cadeia leve, ou os domínios variáveis de cadeia pesada e leve, ou as cadeias pesada e leve do anticorpo anti-CSF1R humanizado, cabiralizumabe (também referido como FPA008 ou huAb1 no presente pedido), divulgado, por exemplo, na Patente US 8.206.715 e Publicação PCT WO2011/140249. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R compreende um conjunto de CDR1,

CDR2 e CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NOs: 5, 6 e 7 e um conjunto de CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve de SEQ ID NOs: 8, 9 e 10.

[0126] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo uma sequência de região variável que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntica a uma sequência de SEQ ID NOs: 11. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia leve compreendendo uma sequência de região variável que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntica a uma sequência de SEQ ID NO: 12. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo uma sequência de região variável que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntica a uma sequência de SEQ ID NO: 11; e uma cadeia leve compreendendo uma sequência de região variável que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica a uma sequência de SEQ ID NO: 12.

[0127] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R compreende um conjunto de CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NOs: 5, 6 e 7 e um conjunto de CDR1, CDR2 e CD R3 de cadeia leve de SEQ ID NOs: 8, 9 e 10 e compreende ainda uma cadeia pesada compreendendo uma sequência de região variável que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos



95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica à da sequência de SEQ ID NO: 11. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R compreende um conjunto de CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NOs: 5, 6 e 7 e um conjunto de CDR1, CDR2 e CD R3 de cadeia leve de SEQ ID NOs: 8, 9 e 10 e compreende ainda uma cadeia leve compreendendo uma sequência de região variável que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica à da sequência de SEQ ID NO: 12. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R compreende um conjunto de CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NOs: 5, 6 e 7 e um conjunto de CDR1, CDR2 e CD R3 de cadeia leve de SEQ ID NOs: 8, 9 e 10 e compreende ainda uma cadeia pesada compreendendo uma sequência de região variável que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica à da sequência de SEQ ID NO: 11; e também uma cadeia leve compreendendo uma sequência de região variável que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97 %, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntico à sequência de SEQ ID NO: 12. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende as sequências completas de domínio variável de cadeia pesada e cadeia leve do cabiralizumabe (SEQ ID NOs: 11 e 12).

[0128] Conforme utilizado na presente invenção, se um determinado polipeptídeo é, por exemplo, pelo menos 95% idêntico a uma sequência de aminoácidos, isto pode ser determinado utilizando, por exemplo, um programa de computador. Ao determinar se uma determinada sequência é, por exemplo, 95% idêntica a uma sequência de referência, a percentagem de

identidade é calculada em todo o comprimento da sequência de aminoácidos de referência. Em alguns exemplos de realização, uma ou mais das substituições de aminoácidos são substituições conservadoras de aminoácidos. Um especialista na técnica pode selecionar uma ou mais substituições de aminoácidos conservadoras adequadas para uma determinada sequência de CDR, de modo que as substituições de aminoácidos conservadoras adequadas não preveem alterar significativamente as propriedades de ligação do anticorpo compreendendo a CDR mutada.

[0129] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo uma sequência que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntica a uma sequência de SEQ ID NO: 13. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia leve compreendendo uma sequência que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntica a uma sequência de SEQ ID NO: 14. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo uma sequência que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntica a uma sequência de SEQ ID NO: 13; e uma cadeia leve compreendendo uma sequência que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica a uma sequência de SEQ ID NO: 14.

[0130] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-

CSF1R compreende um conjunto de CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NOs: 5, 6 e 7 e um conjunto de CDR1, CDR2 e CD R3 de cadeia leve de SEQ ID NOs: 8, 9 e 10 e compreende ainda uma cadeia pesada compreendendo uma sequência que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica à da sequência de SEQ ID NO: 13. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R compreende um conjunto de CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NOs: 5, 6 e 7 e um conjunto de CDR1, CDR2 e CD R3 de cadeia leve de SEQ ID NOs: 8, 9 e 10 e compreende ainda uma cadeia leve compreendendo uma sequência que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica à da sequência de SEQ ID NO: 14. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R compreende um conjunto de CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NOs: 5, 6 e 7 e um conjunto de CDR1, CDR2 e CD R3 de cadeia leve de SEQ ID NOs: 8, 9 e 10 e compreende ainda uma cadeia pesada compreendendo uma sequência que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica à da sequência de SEQ ID NO: 13; e também uma cadeia leve compreendendo uma sequência que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97 %, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntico à sequência de SEQ ID NO: 14. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende as sequências da cadeia pesada e cadeia leve completas do cabiralizumabe (SEQ ID NOs: 13 e 14). Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R consiste das sequências da cadeia pesada

e cadeia leve completas do cabiralizumabe (SEQ ID NOs: 13 e 14).

[0131] Os anticorpos anti-CSF1R utilizáveis nos métodos da invenção divulgada também incluem fragmentos de ligação ao antígeno. Foi amplamente demonstrado que a função de ligação ao antígeno de um anticorpo pode ser realizada por fragmentos de um anticorpo inteiro (de comprimento total). Exemplos de fragmentos de ligação incluem (i) um fragmento Fab, um fragmento monovalente que consiste nos domínios  $V_L$ ,  $V_H$ ,  $C_L$  e  $C_{H1}$ ; (ii) um fragmento  $F(ab')_2$ , um fragmento bivalente que compreende dois fragmentos Fab ligados por uma ponte de bissulfeto na região de dobradiça; (iii) um fragmento Fd que consiste nos domínios  $V_H$  e  $C_{H1}$ ; e (iv) um fragmento Fv que consiste nos domínios  $V_L$  e  $V_H$  de um único braço de um anticorpo. Em alguns exemplos de realização, os fragmentos de ligação ao antígeno compreendem um conjunto de CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NOs: 5, 6 e 7 e um conjunto de CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve de SEQ ID NOs: 8, 9 e 10. Assim, em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é um anticorpo inteiro ou, alternativamente, é um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou  $(Fab')_2$ .

[0132] Em alguns exemplos de realização, os fragmentos de ligação ao antígeno compreendem uma sequência de região variável de cadeia pesada que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntica a uma sequência de SEQ ID NO: 11. Em alguns exemplos de realização, os fragmentos de ligação ao antígeno compreendem uma sequência de região variável de cadeia leve que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntica a uma sequência de SEQ ID NO: 12. Em alguns exemplos de realização, os fragmentos de ligação ao antígeno

compreendem uma sequência da região variável de cadeia pesada que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntica a uma sequência de SEQ ID NO: 11; e uma sequência da região variável de cadeia pesada que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica a uma sequência de SEQ ID NO: 12.

[0133] Em alguns exemplos de realização, os fragmentos de ligação ao antígeno compreendem um conjunto de CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NOs: 5, 6 e 7 e um conjunto de CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve de SEQ ID NOs: 8, 9 e 10; e compreendem ainda uma sequência da região variável de cadeia pesada que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica à da sequência de SEQ ID NO: 11. Em alguns exemplos de realização, os fragmentos de ligação ao antígeno compreendem um conjunto de CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NOs: 5, 6 e 7 e um conjunto de CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve de SEQ ID NOs: 8, 9 e 10; e compreendem ainda uma sequência da região variável de cadeia leve que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica à da sequência de SEQ ID NO: 12. Em alguns exemplos de realização, os fragmentos de ligação ao antígeno compreendem um conjunto de CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada de SEQ ID NOs: 5, 6 e 7 e um conjunto de CDR1, CDR2 e CD R3 de cadeia leve de SEQ ID NOs: 8, 9 e 10 e compreendem ainda uma sequência da região variável de cadeia pesada que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo

menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica à da sequência de SEQ ID NO: 11; e também uma sequência da região variável de cadeia leve que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97 %, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntico à sequência de SEQ ID NO: 12. Em alguns exemplos de realização, os fragmentos de ligação ao antígeno compreendem as sequências completas do domínio variável de cadeia pesada e cadeia leve do cabiralizumabe (SEQ ID NOs: 11 e 12).

#### **REGIÕES CONSTANTES DO ANTICORPO ANTI-CSF1R EXEMPLARES**

[0134] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R descrito na presente invenção compreende uma ou mais regiões constantes humanas. Em alguns exemplos de realização, a região constante de cadeia pesada humana é de um isotipo selecionado a partir da IgA, IgG e IgD. Em alguns exemplos de realização, a região constante da cadeia leve humana é de um isotipo selecionado a partir de  $\kappa$  e  $\lambda$ . Em alguns exemplos de realização, um anticorpo humanizado descrito na presente invenção compreende uma região constante de IgG humana. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo humanizado descrito na presente invenção compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG<sub>4</sub> humana. Em alguns desses exemplos de realização, um anticorpo humanizado descrito no presente pedido compreende uma mutação S241P (numeração de Kabat; S241P corresponde a uma mutação S228P no sistema de numeração EU) na região constante de IgG<sub>4</sub> humana. (Consulte a SEQ ID NO: 17.) Em alguns exemplos de realização, um anticorpo humanizado descrito na presente invenção compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG<sub>4</sub> humana e uma de cadeia leve  $\kappa$  humana.

[0135] A escolha da região constante de cadeia pesada pode

determinar se um anticorpo terá ou não uma função efetora *in vivo*. Tal função efetora, em alguns exemplos de realização, inclui citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpos (ADCC) e/ou citotoxicidade dependente do complemento (CDC), e pode resultar na morte da célula à qual o anticorpo está ligado. Em alguns métodos de tratamento, incluindo métodos para tratar alguns câncers, a morte celular pode ser desejável, por exemplo, quando o anticorpo se liga a uma célula que suporta a manutenção ou o crescimento do tumor. Exemplos de células que podem suportar a manutenção ou o crescimento de um tumor incluem, mas não se limitam as, próprias células tumorais, células que auxiliam no recrutamento de vasculatura para o tumor e células que fornecem ligantes, fatores de crescimento ou contrarreceptores que suportam ou promovem o crescimento tumoral ou a sobrevivência do tumor. Em alguns exemplos de realização, quando a função efetora é desejável, é selecionado um anticorpo anti-CSF1R que compreende uma cadeia pesada de IgG1 humana ou uma cadeia pesada de IgG3 humana.

[0136] Um anticorpo pode ser humanizado por qualquer método. Os métodos exemplificativos não limitativos de humanização incluem aqueles métodos descritos, por exemplo, nas Patentes US 5.530.101; US 5.585.089; US 5.693.761; US 5.693.762; US 6.180.370; Jones *et al.*, *Nature* 321: 522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature* 332: 323-27 (1988); Verhoeyen *et al.*, *Science* 239: 1534-36 (1988); e Publicação US 2009/0136500.

[0137] Conforme observado acima, um anticorpo humanizado é um anticorpo no qual pelo menos um aminoácido em uma região do arcabouço (*framework*) de uma região variável não humana foi substituído pelo aminoácido a partir do local correspondente em uma região de arcabouço (*framework*) humana. Em alguns exemplos de realização, pelo menos duas, pelo menos três, pelo menos quatro, pelo menos cinco, pelo menos seis, pelo menos sete, pelo menos oito, pelo menos nove, pelo menos 10, pelo menos

11, pelo menos, 12, pelo menos 15 ou pelo menos 20 aminoácidos nas regiões estruturais de uma região variável não humana são substituídos por um aminoácido de um ou mais locais correspondentes em uma ou mais regiões de arcabouço (*framework*) humanas.

[0138] Em alguns exemplos de realização, alguns dos aminoácidos humanos correspondentes utilizados para substituição são das regiões estruturais de diferentes genes de imunoglobulina humana. Ou seja, em alguns destes exemplos de realização, um ou mais dos aminoácidos não humanos podem ser substituídos por aminoácidos correspondentes de uma região de arcabouço (*framework*) humana de um primeiro anticorpo humano ou codificados por um primeiro gene de imunoglobulina humana, um ou mais dos aminoácidos não humanos podem ser substituídos por aminoácidos correspondentes de uma região de arcabouço (*framework*) humana de um segundo anticorpo humano ou codificados por um segundo gene de imunoglobulina humana, um ou mais dos aminoácidos não humanos podem ser substituídos por aminoácidos correspondentes da região de arcabouço (*framework*) humana de um terceiro anticorpo humano ou codificado por um terceiro gene de imunoglobulina humana, etc. Além disso, em alguns exemplos de realização, todos os aminoácidos humanos correspondentes que são usados para substituição em uma região de arcabouço (*framework*) única, por exemplo, FR2, não precisam ser da mesma *framework* humana. Em alguns exemplos de realização, no entanto, todos os aminoácidos humanos correspondentes que são utilizados para substituição são do mesmo anticorpo humano ou são codificados pelo mesmo gene de imunoglobulina humana.

[0139] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo é humanizado substituindo uma ou mais regiões de arcabouço inteiras por regiões de arcabouço humanas correspondentes. Em alguns exemplos de realização, é selecionada uma região de arcabouço humana que possui o mais



alto nível de homologia com a região de arcabouço não humana que está sendo substituída. Em alguns exemplos de realização, tal anticorpo humanizado é um anticorpo com CDR enxertada.

[0140] Em alguns exemplos de realização, após o enxerto da CDR, um ou mais aminoácidos do arcabouço são alterados de volta para o aminoácido correspondente em uma região de arcabouço. Tais “mutações reversas”/“retromutações” (*back mutations*) são feitas, em alguns exemplos de realização, para reter um ou mais aminoácidos da estrutura de camundongo que parecem contribuir para a estrutura de uma ou mais das CDRs e/ou que podem estar envolvidos no contato com os antígenos e/ou parecem estar envolvidos na integridade estrutural global do anticorpo. Em alguns exemplos de realização, dez ou menos, nove ou menos, oito ou menos, sete ou menos, seis ou menos, cinco ou menos, quatro ou menos, três ou menos, dois ou menos, uma ou duas mutações reversas são feitas nas regiões de arcabouço de um anticorpo após o enxerto da CDR.

[0141] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo humanizado também compreende uma região constante de cadeia pesada humana e/ou uma região constante da cadeia leve humana.

[0142] Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é um anticorpo humano. Os anticorpos humanos podem ser feitos por qualquer método adequado. Métodos exemplificativos não limitantes da invenção incluem a fabricação de anticorpos humanos em camundongos transgênicos que compreendem *loci* de imunoglobulina humana. Vide, por exemplo, Jakobovits *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 2551-55 (1993); Jakobovits *et al.*, *Nature* 362: 255-8 (1993); Lonberg *et al.*, *Nature* 368: 856-9 (1994); e as Patentes US 5.545.807; US 6.713.610; US 6.673.986; US 6.162.963; US 5.545.807; US 6.300.129; US 6.255.458; US 5.877.397; US 5.874.299; e US 5.545.806.

[0143] Métodos exemplificativos não limitantes da invenção também incluem a criação de anticorpos humanos usando bibliotecas de exibição em fagos. Vide, por exemplo, Hoogenboom *et al.*, *J. Mol. Biol.* 227: 381-8 (1992); Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.* 222: 581-97 (1991); e a publicação PCT WO 99/10494.

[0144] Assim, em alguns exemplos de realização, quando a função efetora é desejável, é selecionado um anticorpo anti-CSF1R humano que compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG<sub>1</sub> humana ou uma região constante de cadeia pesada de IgG<sub>3</sub> humana. Em alguns exemplos de realização, quando a função efetora não é desejável, é selecionado um anticorpo anti-CSF1R humano que compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG<sub>4</sub> ou IgG<sub>2</sub> humana.

#### **PROPRIEDADES EXEMPLARES DE ANTICORPOS ANTI-CSF1R**

[0145] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo conforme descrito no presente pedido acima se liga ao CSF1R com uma afinidade de ligação ( $K_D$ ) inferior 1 nM, bloqueia a ligação de CSF1 e/ou IL-34 ao CSF1R e inibe a fosforilação de CSF1R induzida pelo CSF1 e/ou pela IL-34.

[0146] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R se liga ao domínio extracelular de CSF1R (CSF1R-ECD). Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R possui uma afinidade de ligação ( $K_D$ ) para o CSF1R que menor do que 1 nM, menor do que 0,5 nM, menor do que 0,1 nM, ou menor do que 0,05 nM. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R tem uma  $K_D$  entre 0,01 e 1 nM, entre 0,01 e 0,5 nM, entre 0,01 e 0,1 nM, entre 0,01 e 0,05 nM, ou entre 0,02 e 0,05 nM.

[0147] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R bloqueia a ligação do ligante ao CSF1R. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R bloqueia a ligação do CSF1 ao CSF1R. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R bloqueia a

ligação da IL-34 ao CSF1R. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R bloqueia a ligação de ambos, IL-34 e CSF1, ao CSF1R. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo que bloqueia a ligação ao ligante se liga ao domínio extracelular do CSF1R. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo bloqueia a ligação do ligante ao CSF1R quando reduz a quantidade de ligação detectável de um ligante ao CSF1R em pelo menos 50%, utilizando o ensaio descrito, por exemplo, na Patente US 8.206.715 B2, Exemplo 7, que incorporada ao presente pela referência para qualquer finalidade. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo reduz a quantidade de ligação detectável de um ligando ao CSF1R em pelo menos 60%, pelo menos 70%, pelo menos 80% ou pelo menos 90%. Em alguns destes exemplos de realização, diz-se que o anticorpo bloqueia a ligação do ligante em pelo menos 50%, pelo menos 60%, pelo menos 70%, etc.

[0148] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R inibe a fosforilação de CSF1R induzida pelo ligante. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R inibe a fosforilação de CSF1R induzida pelo CSF1. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R inibe a fosforilação de CSF1R induzida pela IL-34. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R inibe a fosforilação de CSF1R induzida por ambos ligantes, CSF1 e IL-34. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo é considerado “inibidor da fosforilação de CSF1R induzida pelo ligante” quando reduz a quantidade de fosforilação de CSF1R induzida pelo ligante detectável em pelo menos 50%, usando o ensaio descrito, por exemplo, na Patente US 8.206.715 B2, Exemplo 6, que é incorporada ao presente pela referência para qualquer finalidade. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo reduz a quantidade de fosforilação de CSF1R induzida pelo ligante detectável em pelo menos 60%, pelo menos 70%, pelo menos 80% ou pelo menos 90%. Em alguns desses exemplos de realização,

diz-se que o anticorpo inibe a fosforilação de CSF1R induzida pelo ligante em pelo menos pelo menos 50%, pelo menos 60%, pelo menos 70%, etc.

[0149] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo inibe a proliferação de monócitos e/ou respostas de sobrevivência na presença de CSF1 e/ou IL-34. Em alguns exemplos de realização, considera-se que um anticorpo “inibe a proliferação de monócitos e/ou respostas de sobrevivência” quando ele reduz a quantidade de proliferação de monócitos e/ou respostas de sobrevivência na presença de CSF1 e/ou IL-34 em pelo menos 50%, usando o ensaio descrito, por exemplo, na Patente US 8.206.715 B2, Exemplo 10, que é incorporada ao presente pela referência para qualquer finalidade. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo reduz a quantidade de proliferação de monócitos e/ou respostas de sobrevivência na presença de CSF1 e/ou IL-34 em pelo menos 60%, pelo menos 70%, pelo menos 80% ou pelo menos 90%. Em alguns destes exemplos de realização, diz-se que o anticorpo inibe a proliferação de monócitos e/ou respostas de sobrevivência em pelo menos pelo menos 50%, pelo menos 60%, pelo menos 70%, etc.

#### **ANTICORPOS ANTI-PD-1 EXEMPLARES**

[0150] PD-1 é um receptor de ponto de controle imune chave expresso por células T e B ativadas e medeia a imunossupressão. O PD-1 é um membro da família de receptores CD28, que inclui CD28, CTLA-4, ICOS, PD-1 e BTLA. Dois ligantes de glicoproteína de superfície celular para PD-1 foram identificados, Ligante 1 de Morte Programada (PD-L1) e Ligante 2 de Morte Programada (PD-L2), que são expressos em células apresentadoras de antígeno, bem como em muitos cânceres humanos, e mostraram regular negativamente a ativação de células T e secreção de citocinas mediante a ligação a PD-1. A inibição da interação PD-1/PD-L1 medeia uma potente atividade antitumoral em modelos pré-clínicos.

[0151] Os anticorpos anti-PD-1 exemplares usados na presente

invenção compreendem as CDRs de cadeias pesada e leve, ou os domínios variáveis das cadeias pesada e leve, ou as cadeias pesada e leve do anticorpo anti-PD-1 nivolumabe (também conhecido como “Opdivo®”; anteriormente designado 5C4, BMS-936558, MDX-1106 ou ONO-4538), que é um anticorpo IgG<sub>4</sub> (S241P) anti-PD-1 totalmente humano que impede seletivamente a interação da PD-1 com os ligantes PD-L1 e PD-L2, bloqueando assim a regulação negativa das funções das células T antitumorais. O Nivolumabe é descrito na patente US 8.008.449; e em Wang *et al.*, 2014 *Cancer Immunol Res.* 2(9):846-56. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 no presente pedido compreende CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo as SEQ ID NOs: 28, 30 e 32. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende a CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo as SEQ ID NOs: 35, 37 e 39. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende a CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo as SEQ ID NOs: 28, 30 e 32 e a CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo as SEQ ID NOs: 35, 37 e 39.

[0152] Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a SEQ ID NO: 23. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a SEQ ID NO: 25. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a SEQ ID NO: 23 e/ou uma região variável de cadeia leve compreendendo a SEQ ID NO: 25. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende uma região constante de cadeia pesada compreendendo a SEQ ID NO: 24 e/ou uma região constante de cadeia leve compreendendo a SEQ ID NO: 26. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo as SEQ ID NOs: 23 e 24 e/ou uma cadeia leve

compreendendo as SEQ ID NOs: 25 e 26.

[0153] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo uma sequência de região variável que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntica a SEQ ID NO: 23. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia leve compreendendo uma sequência de região variável que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntica a SEQ ID NO: 25. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo uma sequência de região variável que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntica a SEQ ID NO: 23; e uma cadeia leve compreendendo uma sequência de região variável que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica a SEQ ID NO: 25.

[0154] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende uma CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo as SEQ ID NOs: 28, 30 e 32 e uma CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo as SEQ ID NOs: 35, 37 e 39; e compreende ainda uma cadeia pesada compreendendo uma sequência de região variável que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica à da sequência de SEQ ID NO: 23. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende uma CDR1, CDR2 e CDR3

de cadeia pesada compreendendo as SEQ ID NOs: 28, 30 e 32 e uma CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo as SEQ ID NOs: 35, 37 e 39; e compreende ainda uma cadeia leve compreendendo uma sequência de região variável que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica à da sequência de SEQ ID NO: 25. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende uma CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo as SEQ ID NOs: 28, 30 e 32 e uma CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo as SEQ ID NOs: 35, 37 e 39; e compreende também uma cadeia pesada compreendendo uma sequência de região variável que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica a SEQ ID NO: 23; e uma cadeia leve compreendendo uma sequência de região variável que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntica a SEQ ID NO: 25.

[0155] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo uma sequência de região variável que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntica a SEQ ID NOs: 23 e 24. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia leve compreendendo uma sequência de região variável que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntica a SEQ ID NOs: 25 e 26. Em alguns exemplos de

realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo uma sequência que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntica a SEQ ID NO: 23 e 24; e uma cadeia leve compreendendo uma sequência que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica a SEQ ID NO: 25 e 26.

[0156] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende uma CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo as SEQ ID NOs: 28, 30 e 32 e uma CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo as SEQ ID NOs: 35, 37 e 39; e também compreende uma cadeia pesada compreendendo uma sequência que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica a SEQ ID NOs: 23 e 24. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende uma CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo as SEQ ID NOs: 28, 30 e 32 e uma CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo as SEQ ID NOs: 35, 37 e 39; e também compreende uma cadeia leve compreendendo uma sequência que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica a SEQ ID NOs: 25 e 26. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende uma CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia pesada compreendendo as SEQ ID NOs: 28, 30 e 32 e uma CDR1, CDR2 e CDR3 de cadeia leve compreendendo as SEQ ID NOs: 35, 37 e 39; e compreende também uma cadeia pesada compreendendo uma sequência que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo



menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, ou pelo menos 99% idêntica as SEQ ID NOs: 23 e 24; e uma cadeia leve compreendendo uma sequência que é pelo menos 90%, pelo menos 91%, pelo menos 92%, pelo menos 93%, pelo menos 94%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98% ou pelo menos 99% idêntica as SEQ ID NOs: 25 e 26.

[0157] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende pelo menos uma das CDR discutidas na presente invenção. Isto é, em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende pelo menos uma CDR selecionada a partir de uma CDR1 de cadeia pesada discutida na presente invenção, uma CDR2 de cadeia pesada discutida presente invenção, uma CDR3 de cadeia pesada discutida presente invenção, uma CDR1 de cadeia leve discutida presente invenção, uma CDR2 de cadeia leve discutida na presente invenção, e uma CDR3 de cadeia leve discutida presente invenção. Além disso, em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 compreende pelo menos uma CDR mutada baseada em uma CDR discutida na presente invenção, em que a CDR mutada compreende 1, 2, 3 ou 4 substituições de aminoácidos em relação à CDR discutida na presente invenção. Em alguns exemplos de realização, uma ou mais das substituições de aminoácidos são substituições conservadoras de aminoácidos. Um especialista na técnica pode selecionar uma ou mais substituições de aminoácidos conservadoras adequadas para uma determinada sequência de CDR, de modo que as substituições de aminoácidos conservadoras adequadas não preveem alterar significativamente as propriedades de ligação do anticorpo compreendendo a CDR mutada.

[0158] Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é um fragmento de ligação ao antígeno. Foi amplamente demonstrado que a função de ligação ao antígeno de um anticorpo pode ser realizada por

fragmentos de um anticorpo inteiro (de comprimento total). Exemplos de fragmentos de ligação incluem (i) um fragmento Fab, um fragmento monovalente que consiste nos domínios  $V_L$ ,  $V_H$ ,  $C_L$  e  $C_{H1}$ ; (ii) um fragmento  $F(ab')_2$ , um fragmento bivalente que compreende dois fragmentos Fab ligados por uma ponte de bissulfeto na região de dobradiça; (iii) um fragmento Fd que consiste nos domínios  $V_H$  e  $C_{H1}$ ; e (iv) um fragmento Fv que consiste nos domínios  $V_L$  e  $V_H$  de um único braço de um anticorpo. Assim, em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é um anticorpo inteiro ou, alternativamente, é um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou  $(Fab')_2$ .

[0159] Em alguns exemplos de realização, os anticorpos anti-DP-1 exibem uma ou mais das seguintes características: (a) se liga a PD-1 humano com uma  $K_D$  de  $1 \times 10^{-7}$  M ou menor, conforme determinado por ressonância plasmônica de superfície com o uso de um sistema Biossensor Biacore; (b) não se liga substancialmente ao CD28, CTLA-4 ou ICOS; (c) aumenta a proliferação de células T em um ensaio de Reação Mista de Linfócitos (MLR); (d) aumenta a produção de interferon- $\gamma$  em um ensaio MLR; (e) aumenta a secreção de IL-2 em um ensaio MLR; (f) se liga ao PD-1 humano e PD-1 de macaco cinomolgo; (g) inibe a ligação de PD-L1 e/ou PD-L2 a PD-1; (h) estimula as respostas de memória específicas para o antígeno; (i) estimula as respostas de anticorpo; e/ou (j) inibe o crescimento de células tumorais *in vivo*. Os anticorpos anti-PD-1 utilizáveis na presente invenção incluem anticorpos monoclonais (mAbs) que ligam especificamente ao PD-1 humano e apresentam pelo menos uma, pelo menos duas, pelo menos três, pelo menos quatro ou pelo menos cinco das características anteriores.

[0160] Em alguns exemplos de realização, um anticorpo anti-PD-1 descrito na presente invenção compreende uma ou mais regiões constantes humanas. Em alguns exemplos de realização, a região constante de cadeia pesada humana é de um isotipo selecionado a partir da IgA, IgG e IgD. Em

alguns exemplos de realização, a região constante da cadeia leve humana é de um isotipo selecionado a partir de  $\kappa$  e  $\lambda$ . Em alguns exemplos de realização, um anticorpo humanizado descrito na presente invenção compreende uma região constante de IgG humana. Em alguns exemplos de realização, um anticorpo humanizado descrito na presente invenção compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG<sub>4</sub> humana. Em alguns desses exemplos de realização, um anticorpo humanizado descrito no presente pedido compreende uma mutação S241P (numeração de Kabat; S241P corresponde a uma mutação S228P no sistema de numeração EU) na região constante de IgG<sub>4</sub> humana. (Consulte a SEQ ID NO: 17.) Em alguns exemplos de realização, um anticorpo humanizado descrito na presente invenção compreende uma região constante de cadeia pesada de IgG<sub>4</sub> humana e uma de cadeia leve  $\kappa$  humana.

## **MÉTODOS E COMPOSIÇÕES TERAPÊUTICAS**

### **MÉTODOS PARA TRATAR O CÂNCER**

[0161] A resistência a imunoterapia pode ser relacionada com a atividade de diversos tipos de células imunossupressoras. A depleção de macrófagos associados a tumores (TAMs) pode promover um estado pró-inflamatório, aumentando as respostas das células T antitumorais. Por exemplo, os TAMs inibem a atividade antitumoral de células T no microambiente tumoral. (Consulte Ries C.H. *et al. Cancer Cell* 25: 846-859 (2014) e Cannarile M. *et al. J. Immuno. Ther. Cancer* 5: 53 (2017)). Em cânceres pancreáticos e outros cânceres, níveis elevados de TAMs estão associados ao mau prognóstico. (Consulte Hu H. *et al. Tumour Biol.* 37: 8659-8664 (2016); Kurahara H. *et al. J. Surg. Res.* 167: e211-e219 (2011); Goswami K.K. *et al. Cell Immunol.* 316: 1-10 (2017)). A sinalização através do receptor CSF1 promove a manutenção e a função dos TAMs. (Consulte Ries e Cannarile).

[0162] O cabiralizumabe se liga ao CSF1R e bloqueia a sinalização de citocinas necessária para a ativação de TAM. O cabiralizumabe

pode bloquear o CSF1R de maneira a levar a depleção de TAMs e à regulação positiva da expressão de PD-L1. Consequentemente, o cabiralizumabe pode sinergizar com o bloqueio de PD-1. (Zhu Y. *et al. Cancer Res.* 74: 5057-5069 (2014)). O resultado pode ser modificar o ambiente do tumor imunossupressor enquanto suprime simultaneamente a via do ponto de verificação PD-1, aumentando os benefícios de uma terapia com anticorpos anti-PD-1, mesmo em pacientes para os quais a monoterapia com anti-PD-1 tem benefício clínico limitado (por exemplo, no câncer pancreático). Os eventos adversos observados no tratamento combinado com cabiralizumabe e nivolumabe incluem elevações da creatina quinase e enzimas hepáticas. Hipotetiza-se que elas sejam secundárias à depleção de células de Kupffer (macrófagos) pelo cabiralizumabe.

[0163] Em alguns exemplos de realização, são fornecidos métodos para o tratamento do câncer. Em alguns exemplos de realização, o câncer é selecionado a partir de câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC), melanoma, carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço, câncer de ovário, câncer pancreático, carcinoma de células renais, carcinoma hepatocelular, câncer de bexiga e câncer endometrial. Em alguns exemplos de realização, o câncer é uma neoplasia do sistema nervoso central. Em alguns exemplos de realização, a neoplasia do sistema nervoso central é um glioma maligno ou glioblastoma. Em alguns exemplos de realização, o câncer é recorrente ou progressivo após uma terapia selecionada a partir de cirurgia, quimioterapia, radioterapia ou uma combinação dos mesmos. Em alguns exemplos de realização, o paciente tem câncer estágio III ou IV, conforme definido na seção de definições abaixo com relação a cânceres específicos. Em algumas realizações, o câncer do paciente é metastático. Em alguns desses exemplos de realização, o câncer é NSCLC e o paciente com NSCLC tem doença em estágio IIIB ou IV e/ou demonstrou progressão ou recorrência

da doença durante e/ou após um regime de quimioterapia dupla à base de platina ou outro regime para doença avançada ou metastática. Em alguns desses exemplos de realização, o paciente tem melanoma em Estádio III ou IV. Em alguns exemplos de realização, o paciente com melanoma demonstrou progressão da doença durante ou após o tratamento com pelo menos um inibidor de BRAF ou é BRAF tipo selvagem. Em alguns exemplos de realização, o paciente tem câncer de células escamosas da cabeça e pescoço (SSCHN), como SSCHN em estádios III ou IV ou SSCHN recorrente ou metastático. Em alguns exemplos de realização, o paciente com SSCHN recebeu quimioterapia anteriormente, como terapia com platina, mas demonstrou progressão ou recorrência do tumor. Em alguns exemplos de realização, o paciente SSCHN recebeu anteriormente terapia de radiação, opcionalmente junto com terapia de platina, mas demonstrou progressão ou recorrência do tumor. Em alguns exemplos de realização, o paciente tem adenocarcinoma do cólon ou reto. Em alguns exemplos de realização, o paciente tem câncer colorretal metastático. Em alguns exemplos de realização, o paciente tem câncer colorretal metastático, apesar do tratamento anterior com um ou mais dentre fluoropirimidina, oxaliplatina, irinotecano, bevacizumabe, cetuximabe ou panitumumabe. Em alguns exemplos de realização, o paciente tem glioma maligno (por exemplo, glioblastoma ou gliosarcoma). Em alguns exemplos de realização, o paciente com glioma maligno foi tratado anteriormente com cirurgia, radioterapia e/ou temozolomida. Em alguns exemplos de realização, o paciente com glioma maligno tem glioma maligno de Grau IV. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é um respondedor inadequado do inibidor de PD-1/PD-L1 ou é refratário ao tratamento anterior com um inibidor de PD-1/PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito recebeu anteriormente terapia inibidora de PD-1/PD-L1 e em outros exemplos de realização o sujeito não recebeu anteriormente terapia

inibidora de PD-1/PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o paciente recebeu anteriormente uma ou mais quimioterapia, radioterapia ou cirurgia; em alguns desses exemplos de realização, o paciente documentou a progressão do tumor, apesar de tal tratamento prévio.

[0164] Em alguns exemplos de realização, são fornecidos métodos para o tratamento do câncer pancreático, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um anticorpo anti-CSF1R e uma quantidade eficaz de um anticorpo anti-PD-1. O câncer pancreático nos exemplos de realização aqui apresentados pode ser adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC), câncer pancreático avançado, câncer pancreático localmente avançado, câncer pancreático metastático ou câncer pancreático estável para microssatélites (MSS). Em alguns exemplos de realização, o sujeito é um respondedor inadequado do inibidor de PD-1/PD-L1 ou é refratário ao tratamento anterior com um inibidor de PD-1/PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito recebeu anteriormente terapia inibidora de PD-1/PD-L1 e em outros exemplos de realização o sujeito não recebeu anteriormente terapia inibidora de PD-1/PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o paciente recebeu anteriormente uma ou mais quimioterapia, radioterapia ou cirurgia; em alguns desses exemplos de realização, o paciente documentou a progressão do tumor, apesar de tal tratamento prévio. Em alguns exemplos de realização, o câncer é o câncer pancreático metastático. Em alguns casos, o câncer pode ter metastizado para outros órgãos, como o fígado e/ou pulmão.

[0165] O câncer pancreático está associado com elevada infiltração de TAM e mau prognóstico. (Consulte, Hu H. *et al. Tumour Biol.* 37: 8659-8664 (2016); Kurahara H. *et al. J. Surg. Res.* 167: e211-e219 (2011)). Em alguns exemplos de realização, uma combinação de cabiralizumabe e nivolumabe mais ou menos a quimioterapia pode beneficiar pacientes com câncer pancreático por redução de TAMs e inibição da sinalização de PD-1. O

câncer pancreático geralmente se apresenta como uma doença metastática, com uma taxa de sobrevida de 17-23% em 1 ano e uma taxa de sobrevida de apenas 1-3% em 5 anos. (Consulte Von Hoff D.D. *et al. N. Engl. J. Med.* 369: 1691-1703 (2013); *Am. Cancer Society, Pancreatic cancer*: <https://www.cancer.org/cancer/pancreatic-cancer.html>, (acessado em 20 de outubro de 2017); Foley K. *et al. Cancer Lett.* 381: 244-251 (2016)). Mais de 95% dos pacientes com câncer pancreático são pacientes com câncer pancreático MSS e a maioria são respondedores inadequados aos inibidores de PD-1/PD-L1. (Consulte Goggins M. *et al. Am. J. Pathol.* 1501-1507 (1998); Luttges J. *et al. Mod. Pathol.* 16: 537-542 (2003); Laghi L. *et al. PLOS One* 7: e46002 (2012); Brahmer JR *et al. N. Engl. J. Med.* 366: 2455-2465 (2012)).

[0166] Em alguns exemplos de realização, os métodos do presente pedido compreendem o tratamento do câncer pancreático em um sujeito compreendendo a administração ao sujeito de 4 mg/kg de um anticorpo anti-CSF1R e 3 mg/kg de um anticorpo anti-PD-1, em que os anticorpos são administrados uma vez a cada duas semanas. As quantidades de 4 mg/kg e 3 mg/kg no presente pedido são arredondadas para um número significativo e, portanto, incluem quantidades que arredondam para 4 ou que arredondam para 3, respectivamente. Administração uma vez a cada duas semanas significa a cada 12-16 dias, a cada 13-15 dias ou a cada 12, 13, 14, 15 ou 16 dias. Em alguns exemplos de realização, os anticorpos são administrados a cada 14 dias. Em alguns exemplos de realização, eles são administrados a cada 13-15 dias. Os anticorpos não precisam ser administrados no mesmo ambiente ou durante uma única consulta médica, mas podem ser administrados sequencialmente de maneira escalonada, também com base na conveniência do paciente e do médico. Por exemplo, os anticorpos podem ser administrados em dias diferentes um do outro.

[0167] Em alguns exemplos de realização, os métodos da

presente invenção compreendem o tratamento do câncer pancreático em um sujeito que compreende a administração ao sujeito de 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 mg/kg de um anticorpo anti-CSF1R uma vez a cada duas semanas e 200-600 mg de um anticorpo anti-PD-1 uma vez a cada 4 semanas. Os valores acima são arredondados para um valor significativo. Em alguns exemplos de realização, são administrados 2, 3 ou 4 mg/kg de anticorpo anti-CSF1R. Em alguns exemplos de realização, são administrados 400-600 mg de anticorpo anti-PD-1. Em alguns exemplos de realização, são administrados 200, 300, 400, 450, 480, 500, 520, 550 ou 600 mg de anticorpo anti-PD-1. Administração uma vez a cada duas semanas inclui a cada 12-16 dias, a cada 13-15 dias ou a cada 12, 13, 14, 15 ou 16 dias. A administração uma vez a cada 4 semanas inclui a cada 28 mais ou menos 4 dias, como a cada 24 a 32 dias ou a cada 26 a 30 dias, ou a cada 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 ou 32 dias. Os anticorpos não precisam ser administrados no mesmo ambiente ou durante uma única consulta médica, mas podem ser administrados sequencialmente de maneira escalonada, também com base na conveniência do paciente e do médico. Por exemplo, os anticorpos podem ser administrados em dias diferentes um do outro.

[0168] Em alguns exemplos de realização, o paciente com câncer também pode receber quimioterapia, além da combinação de anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1, como o regime padrão de quimioterapia de primeira ou segunda linha para o câncer desse paciente. Em alguns desses exemplos de realização, o paciente pode ter progredido após receber um curso de tratamento quimioterápico de primeira linha para o câncer.

[0169] Por exemplo, em pacientes com câncer pancreático, o paciente também pode receber uma combinação de gemcitabina e nab-paclitaxel (Abraxane®). Em alguns exemplos de realização, o paciente pode receber 500-1500 mg/m<sup>2</sup>, 800-1200 mg/m<sup>2</sup> ou 1000, 800 ou 600 mg/m<sup>2</sup> de gemcitabina por IV por IV a cada 2, 3 ou 4 semanas e 75-150 mg/m<sup>2</sup>, de 100



mg/m<sup>2</sup>, ou 125 mg/m<sup>2</sup> de nab-paclitaxel por via intravenosa a cada 2, 3, ou 4 semanas. Por exemplo, alguns pacientes podem receber 1000, 800 ou 600 mg/m<sup>2</sup> de gemcitabina e 125, 100 ou 75 mg/m<sup>2</sup> de nab-paclitaxel a cada duas semanas. Por exemplo, em pacientes com câncer pancreático, o paciente também pode receber uma combinação de injeção de 5-fluorouracila (5-FU), leucovorina e lipossomas de irinotecano (Onivyde®). Em pacientes com câncer pancreático, o paciente também pode receber uma combinação de 5-FU, leucovorina e oxaliplatina (FOLFOX). O tratamento com FOLFOX pode envolver a administração de 50-100 mg/m<sup>2</sup> de oxaliplatina, como 50, 60, 75, 85 ou 100 mg/m<sup>2</sup>, e pode envolver a administração de 200 a 500 mg/m<sup>2</sup> de leucovorina, como 200, 300, 400 ou 500 mg/m<sup>2</sup>, e pode envolver a administração de 5-FU como um *bolus* inicial em 200, 300, 400 ou 500 mg/m<sup>2</sup>, seguido de uma infusão intravenosa mais longa durante 24-48 horas de 1600-3000 mg/m<sup>2</sup>, como 1600, 2000, 2400 ou 3000 mg/m<sup>2</sup> administrados por 46-48 horas por IV. Em alguns exemplos de realização nos quais é administrado FOLFOX, a oxaliplatina é administrado a 85 mg/m<sup>2</sup>. Em alguns exemplos de realização nos quais é administrado FOLFOX, a leucovorina é administrado a 400 mg/m<sup>2</sup>. Em alguns exemplos de realização nos quais é administrado FOLFOX, a 5-FU é administrada como um *bolus* a 400 mg/m<sup>2</sup>, seguida por 2400 mg/m<sup>2</sup> por infusão IV durante 46 horas. Em alguns exemplos de realização, o regime de FOLFOX é 85 mg/m<sup>2</sup> de oxaliplatina, 400 mg/m<sup>2</sup> de leucovorina, 400 mg/m<sup>2</sup> de *bolus* de 5-FU, seguido por 2400 mg/m<sup>2</sup> de 5-FU por infusão durante 46 horas, todos a cada 2 semanas.

#### **MOLÉCULAS EXEMPLARES PARA TRATAMENTO**

[0170] Nos métodos da presente invenção, o anticorpo anti-CSF1R e o anticorpo anti-DP-1 pode ser qualquer um dos anticorpos descritos no presente pedido, tal como nas seções anteriores da presente divulgação. Por exemplo, em alguns desses exemplos de realização, o anticorpo anti-

CSF1R compreende uma cadeia pesada que compreende uma CDR1 de cadeia pesada (HC) com a sequência de SEQ ID NO: 5, uma CDR2 HC com a sequência de SEQ ID NO: 6 e uma CDR3 HC com a sequência de SEQ ID NO: 7 e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) com a sequência de SEQ ID NO: 8, uma CDR2 LC com a sequência de SEQ ID NO: 9 e uma CDR3 LC com a sequência de SEQ ID NO: 10; e em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada que compreende uma CDR1 de cadeia pesada (HC) com a sequência de SEQ ID NO: 28, uma CDR2 HC com a sequência de SEQ ID NO: 30 e uma CDR3 HC com a sequência de SEQ ID NO: 32, e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) com a sequência de SEQ ID NO: 35, uma CDR2 LC com a sequência de SEQ ID NO: 37 e uma CDR3 LC com a sequência de SEQ ID NO: 39. Em alguns exemplos de realização, a cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 compreende uma sequência da região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 23; e a cadeia leve do anticorpo anti-PD-1 compreende a sequência da região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 25. Em alguns exemplos de realização, a cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável da cadeia pesada que é pelo menos 95%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de SEQ ID NO: 23 e a cadeia leve do anticorpo anti-PD-1 compreende a região variável da cadeia leve que é pelo menos 95%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de SEQ ID NO: 25. Por exemplo, a sequência pode compreender cada uma das CDRs das cadeias pesada e leve de SEQ ID NOs: 28, 30, 32, 35, 37 e 39 e também compreender uma região variável da cadeia pesada que é pelo menos 95%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de SEQ ID NO: 23 e uma região variável da cadeia leve que é pelo menos 95%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de SEQ ID NO: 25. Em alguns exemplos de realização, a cadeia pesada de anticorpo anti-PD-1 compreende a sequência de cada uma das SEQ ID NO: 23 e 24 e a cadeia leve de anticorpo anti-PD-1

compreende a sequência de cada uma das SEQ ID NO: 25 e 26. Em alguns exemplos de realização, a cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 compreende uma sequência que é pelo menos 95%, 97%, 98% ou 99% idêntica a uma sequência compreendendo cada uma das SEQ ID NOs: 23 e 24 e a cadeia leve do anticorpo anti-PD-1 compreende uma sequência que é pelo menos 95%, 97%, 98% ou 99% idêntica a uma sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 25 e 26. Por exemplo, a sequência pode compreender cada uma das CDRs de cadeia leve e leve de SEQ ID NOs: 28, 30, 32, 35, 37 e 39 e também compreender uma cadeia pesada que é pelo menos 95%, 97%, 98% ou 99% idêntica a uma sequência compreendendo cada uma das SEQ ID NOs: 23 e 24 e uma cadeia leve que seja pelo menos 95%, 97%, 98% ou 99% idêntica a uma sequência compreendendo cada uma das SEQ ID NOs: 25 e 26. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é o nivolumabe. Em outros exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é pembrolizumabe ou PDR-001.

[0171] Em alguns exemplos de realização, a cadeia pesada do anticorpo anti-CSF1R compreende a sequência da região variável de cadeia pesada de SEQ ID NO: 11 e a cadeia leve do anticorpo anti-CSF1R compreende a sequência da região variável de cadeia leve de SEQ ID NO: 12. Em alguns exemplos de realização, a cadeia pesada de anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia pesada que é pelo menos 95%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de SEQ ID NO: 11 e uma região variável de cadeia leve que é pelo menos 95%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de SEQ ID NO: 12. Por exemplo, a sequência pode compreender cada uma das CDRs das cadeias pesada e leve de SEQ ID NOs: 5, 6, 7, 8, 9 e 10 e também compreender uma região variável da cadeia pesada que é pelo menos 95%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de SEQ ID NO: 11 e uma região variável da cadeia leve que é pelo menos 95%, 97%, 98% ou 99%

idêntica à sequência de SEQ ID NO: 12. Em alguns exemplos de realização, a cadeia pesada do anticorpo anti-CSF1R compreende a sequência de SEQ ID NO: 13 e a cadeia leve do anticorpo anti-CSF1R compreende a sequência de SEQ ID NO: 14. Em alguns exemplos de realização, a cadeia pesada do anticorpo anti-CSF1R compreende uma sequência que é pelo menos 95%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de SEQ ID NO: 13 e a cadeia leve compreende uma sequência que é pelo menos 95%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de SEQ ID NO: 14. Por exemplo, a sequência pode compreender cada uma das CDRs das cadeias pesada e leve de SEQ ID NOs: 5, 6, 7, 8, 9 e 10 e também compreender uma cadeia pesada que é pelo menos 95%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de SEQ ID NO: 13 e uma cadeia leve que é pelo menos 95%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de SEQ ID NO: 14. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é o cabiralizumabe.

[0172] Em determinados exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é um anticorpo que se liga especificamente a PD-1 ou PD-L1 e compreende pembrolizumabe, avelumabe, durvalumabe, atezolizumabe ou PDR001, ou é substituído por um Inibidor de PD-1 PD-L1 não anticorpo, tal como AMP-224. Determinados métodos compreendem a administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de AMG820 e pembrolizumabe a um indivíduo com câncer pancreático. Determinados métodos compreendem a administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de PDR001 e BLZ945 ou MCZ-110 a um indivíduo com câncer pancreático. Em tais exemplos de realização, um paciente com câncer, tal como um paciente com câncer pancreático, pode receber 4 mg/kg de anticorpo anti-CSF1R e 3 mg/kg de anticorpo anti-PD-1 compreendendo pembrolizumabe, avelumabe, durvalumabe, atezolizumabe ou é substituído por um inibidor de PD-1/PD-L1 não anticorpo, como AMP-224 ou PDR001. Em tais exemplos de realização,

um paciente com câncer, como um paciente com câncer pancreático, pode receber 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 mg/kg de anticorpo anti-CSF1R a cada 2 semanas e 300-600 mg/kg de anti-PD-1 de anticorpo a cada mês compreendendo pembrolizumabe, avelumabe, durvalumabe, atezolizumabe ou é substituído por um inibidor de PD-1/PD-L1 que não é anticorpo, como AMP-224 ou PDR001. Cada um dentre AMP-224 ou PDR001, é dado uma vez a cada duas semanas. Em alguns desses exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R pode ser cabiralizumabe ou qualquer um dos anticorpos listados nos parágrafos e seções anteriores da presente invenção.

[0173] Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é uma espécie de anticorpo divulgado em qualquer uma das publicações internacionais WO2013/132044, WO2009/026303, WO2011/140249 ou WO2009/112245, como RG7155 (emactuzumabe), AMG820, SNDX 6352 (UCB 6352), CXIIIG6, IMC-CS4, JNJ-40346527, MCS110 ou o anticorpo anti-CSF1R nos métodos é substituído por um inibidor anti-CSF1R ou inibidor anti-CSF1, como BLZ-945, pexidartinibe (PLX3397, PLX108 -01), AC-708, pexidartinibe, PLX-5622, PLX7486, ARRY-382, ou PLX-73086. Certos métodos aqui descritos, portanto, compreendem administrar a um sujeito com câncer pancreático uma quantidade terapeuticamente eficaz de atezolizumabe e RG7155 (emactuzumabe); peridartinibe e pembrolizumabe ou durvalumabe; ARRY-382 e pembrolizumabe; BLZ945 e PDR001; emactuzumabe e atezolizumabe; AMG820 e pembrolizumabe, IMC-CS4 e durvalumabe, MCS110 e PDR001 ou PD-0360324 e avelumabe. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R nos métodos é substituído por um inibidor anti-CSF1R ou inibidor anti-CSF1, como BLZ-945, pexidartinibe ou PLX-73086 (ou outros aqui descritos). Assim, em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF-1R é o emactuzumabe (RG7155), AMG 820 ou SNDX 6352 (UCB 6352). Em alguns exemplos de realização, um inibidor de CSF-1R não

anticorpo é usado no lugar do anticorpo anti-CSF1R, tal como uma molécula pequena, por exemplo, JNJ-40346527 (agora PRV-6527), por exemplo, um inibidor de tirosina quinase anti-CSF1R, ou outra modalidade.

[0174] Em alguns exemplos de realização, o paciente com câncer, tal como um paciente com câncer pancreático, pode ser administrado com 4 mg/kg de anticorpo anti-CSF1R (ou outros agentes anti-CSF1R ou inibidor de anti-CSF1) e 3 mg/kg de anticorpo anti-DP-1, cada um deles administrado uma vez a cada duas semanas. Em tais exemplos de realização, o paciente com câncer, tal como um paciente com câncer pancreático, pode receber 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 mg/kg de anticorpo anti-CSF1R (ou outro inibidor anti-CSF1R ou anti-CSF1) a cada 2 semanas e 300-600 mg de anticorpo anti-PD-1 a cada 4 semanas. Em alguns desses exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 pode ser nivolumabe, pembrolizumabe, avelumabe, durvalumabe, atezolizumabe, AMP-224 e/ou PDR001, ou qualquer um dos anticorpos listados nos parágrafos e seções anteriores no presente documento. Em outros exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 pode compreender pembrolizumabe, avelumabe, durvalumabe, atezolizumabe ou PDR001, ou é substituído por um inibidor de PD-1/PD-L1 que não é anticorpo, tal como AMP-224.

[0175] Os tratamentos descritos no presente pedido podem ser geralmente aplicáveis a qualquer inibidor anti-CSF-1R e qualquer inibidor anti-PD-1, por exemplo, atezolizumabe e RG7155 (emactuzumabe); peridartinibe e pembrolizumabe ou durvalumabe; ARRY-382 e pembrolizumabe; BLZ945 e PDR001; emactuzumabe e atezolizumabe; AMG820 e pembrolizumabe, IMC-CS4 e durvalumabe, MCS110 e PDR001 ou PD-0360324 e avelumabe.

[0176] Em exemplos de realização da presente invenção, os anticorpos anti-CSF1R e anti-DP-1 podem ser fragmentos que são capazes de ligação ao antígeno, tais como Fv, Fv de cadeia única (scFv), fragmentos Fab,

Fab' e (Fab')<sub>2</sub>, ou, alternativamente, eles podem compreender cadeias pesadas e/ou leves de comprimento total e podem ser anticorpos humanizados, quiméricos ou humanos, conforme descrito mais adiante na presente divulgação.

#### **ADMINISTRAÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-CSF1R E ANTI-DP-1**

[0177] Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R e o anticorpo anti-PD-1 são administrados simultaneamente. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R e o anticorpo anti-PD-1 são administrados sequencialmente. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é infundido por um período de 30-60 minutos e o anticorpo anti-CSF1R é infundido por um período de 30-60 minutos. Em alguns exemplos de realização, a infusão do anticorpo anti-CSF1R é iniciada 30-120 minutos após o final da infusão do anticorpo anti-PD-1. Em alguns exemplos de realização, a infusão do anticorpo anti-CSF1R é iniciada 30-60 minutos, por exemplo, 30 minutos, 45 minutos ou 60 minutos, após o final da infusão do anticorpo anti-PD-1. Em alguns métodos, um anticorpo anti-PD-1 pode ser infundido primeiro, seguido por um período de descanso de 30 a 120 minutos e, então, é infundido um anticorpo anti-CSF1R.

[0178] Em alguns exemplos de realização, um sujeito recebeu ou está recebendo terapia inibidora de PD-1/PD-L1, como terapia com anticorpo anti-PD-1, e um anticorpo anti-CSF1R é adicionado ao regime terapêutico. Em alguns exemplos de realização dos métodos aqui descritos, o paciente com câncer pancreático é um respondedor inadequado ao inibidor de PD-1/PD-L1. Um sujeito que é um respondedor inadequado do inibidor de PD-1/PD-L1, pode ter respondido anteriormente a um inibidor de PD-1/PD-L1, como um anticorpo anti-PD-1, mas pode ter se tornado menos responsivo ao inibidor de PD-1/PD-L1, ou o sujeito pode nunca ter respondido ao inibidor PD-1/PD-L1. A resposta inadequada a um inibidor de PD-1/PD-L1 significa que aspectos da condição

que se esperaria melhorar após uma dose padrão do inibidor de PD-1/PD-L1 não melhoram e/ou a melhora somente ocorre se uma dose maior do que a dose padrão é administrada. Em alguns exemplos de realização, um respondedor inadequado do inibidor de PD-1/PD-L1 experimentou, ou está experimentando, uma resposta inadequada ao inibidor de PD-1/PD-L1 após receber uma dose padrão por pelo menos duas semanas, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos seis semanas ou pelo menos doze semanas. Uma dose “padrão” é determinada por um profissional médico e pode depender da idade, peso, histórico saudável, gravidade da doença, frequência da dosagem, etc. Em alguns exemplos de realização, um respondedor inadequado ao inibidor de PD-1/PD-L1 experimentou, ou está enfrentando, uma resposta inadequada a um anticorpo anti-PD-1 e/ou um anticorpo anti-PD-L1. Em alguns exemplos de realização, um respondedor inadequado do inibidor de PD-1/PD-L1 experimentou ou está enfrentando uma resposta inadequada a um inibidor de PD-1/PD-L1 selecionado a partir de nivolumabe, pembrolizumabe, avelumabe, durvalumabe, atezolizumabe, AMP-224 e/ou PDR001. Em alguns exemplos de realização, o paciente com câncer pancreático que responde inadequadamente a um inibidor de PD-1/PD-L1 se torna refratário à terapia com o inibidor após pelo menos 2 doses, tal como após 2, 3, 4, 5 ou 6 doses de um inibidor de PD-1/PD-L1, por exemplo, nivolumabe, pembrolizumabe, avelumabe, durvalumabe, atezolizumabe, AMP-224 e/ou PDR001. Em alguns exemplos de realização, o sujeito falhou no(s) tratamento(s) padrão para o câncer pancreático ou não é indicado para tratamentos padrão para câncer pancreático.

#### **MÉTODOS EXEMPLARES DE TRATAMENTO DO CÂNCER**

[0179] Em alguns exemplos de realização, pacientes com câncer, tal como pacientes com tumor sólido ou pacientes com câncer avançado, são tratados com 4 mg/kg de cabiralizumabe e 3 mg/kg de nivolumabe a cada 2



semanas, com ou sem quimioterapia. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático são tratados com 4 mg/kg de cabiralizumabe e 3 mg/kg de nivolumabe a cada 2 semanas, com ou sem quimioterapia. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático avançado são tratados com 4 mg/kg de cabiralizumabe e 3 mg/kg de nivolumabe a cada 2 semanas, com ou sem quimioterapia. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático metastático são tratados com 4 mg/kg de cabiralizumabe e 3 mg/kg de nivolumabe a cada 2 semanas, com ou sem quimioterapia. Em alguns exemplos de realização, o câncer se metastizou com outros órgãos, como o fígado e/ou pulmão. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer também são estáveis para microssatélites.

[0180] Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático já receberam pelo menos um regime de quimioterapia. Em alguns exemplos de realização, os pacientes já receberam um regime de quimioterapia compreendendo gencitabina ou 5-FU e progrediram apesar desse regime.

[0181] Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático são tratados com uma combinação de cabiralizumabe, nivolumabe e um regime de quimioterapia que compreende gemcitabina ou 5-FU. Em alguns exemplos de realização, o regime de quimioterapia é gemcitabina/nab-paclitaxel e em outros exemplos de realização, o regime de quimioterapia é FOLFOX (5-FU, leucovorina, oxaliplatina). Em outros exemplos de realização, o regime de quimioterapia é uma combinação de 5-FU, leucovorina e irinotecano lipossômico.

[0182] Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático são tratados com uma combinação de 1, 2, 3, 4, 5, 6 mg/kg de cabiralizumabe uma vez a cada 2 semanas e 300, 400, 450, 480, 500, 550 ou 600 mg nivolumabe uma vez a cada 4 semanas. Em alguns exemplos de

realização, os pacientes com câncer pancreático são tratados com uma combinação de 4 mg/kg de cabiralizumabe uma vez a cada 2 semanas e 480 mg de nivolumabe uma vez a cada 4 semanas. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático avançado são tratados com uma combinação de 1, 2, 3, 4, 5, 6 mg/kg de cabiralizumabe uma vez a cada 2 semanas e 300, 400, 450, 480, 500, 550 ou 600 mg nivolumabe uma vez a cada 4 semanas. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático avançado são tratados com uma combinação de 4 mg/kg de cabiralizumabe uma vez a cada 2 semanas e 480 mg de nivolumabe uma vez a cada 4 semanas. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático metastático são tratados com uma combinação de 1, 2, 3, 4, 5, 6 mg/kg de cabiralizumabe uma vez a cada 2 semanas e 300, 400, 450, 480, 500, 550 ou 600 mg nivolumabe uma vez a cada 4 semanas. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático metastático são tratados com uma combinação de 4 mg/kg de cabiralizumabe uma vez a cada 2 semanas e 480 mg de nivolumabe uma vez a cada 4 semanas. Em alguns exemplos de realização, o câncer metastático se espalhou para outros órgãos, como o fígado e/ou pulmão. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer também são estáveis para microssatélites. Em alguns exemplos de realização, os pacientes progrediram apesar do tratamento quimioterápico prévio.

[0183] Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático são tratados com uma combinação de 1, 2, 3, 4, 5, 6 mg/kg de cabiralizumabe uma vez a cada 2 semanas e 300, 400, 450, 480, 500, 550 ou 600 mg nivolumabe uma vez a cada 4 semanas, além da quimioterapia com gencitabina/nab-paclitaxel. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático são tratados com uma combinação de 4 mg/kg de cabiralizumabe uma vez a cada 2 semanas e 480 mg de nivolumabe uma vez a

cada 4 semanas, além da quimioterapia com gencitabina/nab-paclitaxel.. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático avançado são tratados com uma combinação de 1, 2, 3, 4, 5, 6 mg/kg de cabiralizumabe uma vez a cada 2 semanas e 300, 400, 450, 480, 500, 550 ou 600 mg nivolumabe uma vez a cada 4 semanas, além da quimioterapia com gencitabina/nab-paclitaxel. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático avançado são tratados com uma combinação de 4 mg/kg de cabiralizumabe uma vez a cada 2 semanas e 480 mg de nivolumabe uma vez a cada 4 semanas, além da quimioterapia com gencitabina/nab-paclitaxel.. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático metastático são tratados com uma combinação de 1, 2, 3, 4, 5, 6 mg/kg de cabiralizumabe uma vez a cada 2 semanas e 300, 400, 450, 480, 500, 550 ou 600 mg nivolumabe uma vez a cada 4 semanas, além da quimioterapia com gencitabina/nab-paclitaxel. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático metastático são tratados com uma combinação de 4 mg/kg de cabiralizumabe uma vez a cada 2 semanas e 480 mg de nivolumabe uma vez a cada 4 semanas, além da quimioterapia com gencitabina/nab-paclitaxel.. Em alguns exemplos de realização, o câncer metastático se espalhou para outros órgãos, como o fígado e/ou pulmão. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer também são estáveis para microssatélites. Em alguns exemplos de realização, os pacientes progrediram apesar do tratamento quimioterápico prévio. Em alguns exemplos de realização, a quimioterapia com gencitabina/nab-paclitaxel compreende a administração de 600, 800 ou 1000 mg/m<sup>2</sup> de gencitabina e 75, 100 ou 125 mg/m<sup>2</sup> de nab-paclitaxel a cada 2 semanas. Em alguns exemplos de realização, a quimioterapia com gencitabina/nab-paclitaxel compreende a administração de 600, 800 ou 1000 mg/m<sup>2</sup> de gencitabina e 75, 100 ou 125 mg/m<sup>2</sup> de nab-paclitaxel nos dias 1, 8 e 15 de cada ciclo de 28 dias.

[0184] Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático são tratados com uma combinação de 1, 2, 3, 4, 5, 6 mg/kg de cabirizumabe uma vez a cada 2 semanas e 300, 400, 450, 480, 500, 550 ou 600 mg nivolumabe uma vez a cada 4 semanas, além da quimioterapia FOLFOX. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático são tratados com uma combinação de 4 mg/kg de cabirizumabe uma vez a cada 2 semanas e 480 mg de nivolumabe uma vez a cada 4 semanas, além da quimioterapia FOLFOX. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático avançado são tratados com uma combinação de 1, 2, 3, 4, 5, 6 mg/kg de cabirizumabe uma vez a cada 2 semanas e 300, 400, 450, 480, 500, 550 ou 600 mg nivolumabe uma vez a cada 4 semanas, além da quimioterapia FOLFOX. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático avançado são tratados com uma combinação de 4 mg/kg de cabirizumabe uma vez a cada 2 semanas e 480 mg de nivolumabe uma vez a cada 4 semanas, além da quimioterapia FOLFOX. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático metastático são tratados com uma combinação de 1, 2, 3, 4, 5, 6 mg/kg de cabirizumabe uma vez a cada 2 semanas e 300, 400, 450, 480, 500, 550 ou 600 mg nivolumabe uma vez a cada 4 semanas, além da quimioterapia FOLFOX. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático metastático são tratados com uma combinação de 4 mg/kg de cabirizumabe uma vez a cada 2 semanas e 480 mg de nivolumabe uma vez a cada 4 semanas, além da quimioterapia FOLFOX. Em alguns exemplos de realização, o câncer metastático se espalhou para outros órgãos, como o fígado e/ou pulmão. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer também são estáveis para microssatélites. Em alguns exemplos de realização, os pacientes progrediram apesar do tratamento quimioterápico prévio. Em alguns exemplos de realização, a quimioterapia FOLFOX

compreende a administração de 50, 70 ou 85 mg/m<sup>2</sup> de oxaliplatina e 200, 300 ou 400 mg/m<sup>2</sup> de leucovorina e 200, 300 ou 400 mg/m<sup>2</sup> de 5-FU como um *bolus* seguido por 1600, 2000 ou 2400 mg/m<sup>2</sup> de 5-FU como uma infusão intravenosa de 46 a 48 horas a cada 2 semanas.

[0185] Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático são tratados com uma combinação de 1, 2, 3, 4, 5, 6 mg/kg de cabirizumabe uma vez a cada 2 semanas e 300, 400, 450, 480, 500, 550 ou 600 mg nivolumabe uma vez a cada 4 semanas, além da quimioterapia com 5-FU/leucovorina/irinotecano lipossômico. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático são tratados com uma combinação de 4 mg/kg de cabirizumabe uma vez a cada 2 semanas e 480 mg de nivolumabe uma vez a cada 4 semanas, além da quimioterapia com 5-FU/leucovorina/irinotecano lipossômico. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático avançado são tratados com uma combinação de 1, 2, 3, 4, 5, 6 mg/kg de cabirizumabe uma vez a cada 2 semanas e 300, 400, 450, 480, 500, 550 ou 600 mg nivolumabe uma vez a cada 4 semanas, além da quimioterapia com 5-FU/leucovorina/irinotecano lipossômico. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático avançado são tratados com uma combinação de 4 mg/kg de cabirizumabe uma vez a cada 2 semanas e 480 mg de nivolumabe uma vez a cada 4 semanas, além da quimioterapia com 5-FU/leucovorina/irinotecano lipossômico. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático metastático são tratados com uma combinação de 1, 2, 3, 4, 5, 6 mg/kg de cabirizumabe uma vez a cada 2 semanas e 300, 400, 450, 480, 500, 550 ou 600 mg nivolumabe uma vez a cada 4 semanas, além da quimioterapia com 5-FU/leucovorina/irinotecano lipossômico. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer pancreático metastático são tratados com uma combinação de 4 mg/kg de cabirizumabe uma vez a cada

2 semanas e 480 mg de nivolumabe uma vez a cada 4 semanas, além da quimioterapia com 5-FU/leucovorina/irinotecano lipossômico. Em alguns exemplos de realização, o câncer metastático se espalhou para outros órgãos, como o fígado e/ou pulmão. Em alguns exemplos de realização, os pacientes com câncer também são estáveis para microssatélites. Em alguns exemplos de realização, os pacientes progrediram apesar do tratamento quimioterápico prévio.

[0186] Em alguns exemplos de realização acima, o cabiralizumabe pode ser substituído por outro anticorpo ou inibidor de anti-CSF1R, como RG7155 (emactuzumabe) ou AMG820, ou por um inibidor de CSF1R ou inibidor de CSF1, como BLZ-945, pexidartinibe ou PLX-73086 (ou qualquer outro aqui descrito). Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é emactuzumabe (RG7155), AMG 820 ou SNDX 6352 (UCB 6352) ou outro anticorpo anti-CSF1R, inibidor de CSF1R ou inibidor de CSF1, conforme descrito no presente, tal como uma molécula pequena, por exemplo, JNJ-40346527 (agora PRV-6527), por exemplo, um inibidor tirosina quinase anti-CSF1R, ou outra modalidade. Em alguns exemplos de realização acima, o nivolumabe pode ser substituído por um anticorpo anti-PD-1 compreendendo pembrolizumabe, avelumabe, durvalumabe, atezolizumabe ou PDR001, ou com um inibidor de PD-1/PD-L1 não anticorpo, como AMP-224.

#### **MÉTODOS DE SELEÇÃO DE PACIENTES PARA O TRATAMENTO**

[0187] Em alguns exemplos de realização, é fornecido um método para selecionar um paciente para terapia combinada com um anticorpo anti-CSF1R e um anticorpo anti-PD-1 com ou sem quimioterapia, que compreende determinar os níveis de TAMs e/ou células T CD8<sup>+</sup> no paciente. Em alguns exemplos de realização, se os níveis de TAM do paciente são elevados, o paciente é selecionado para terapia combinada. Em alguns exemplos de realização, se os níveis de TAM e de células T CD8<sup>+</sup> do paciente são elevados,

o paciente é selecionado para terapia combinada. O nível de TAMs ou células T CD8<sup>+</sup> é considerado “alto” se estiver pelo menos 10%, pelo menos 20%, pelo menos 30%, pelo menos 40%, pelo menos 50%, pelo menos 75% ou pelo menos 100% mais alto que o nível em um indivíduo que não tem câncer. Em alguns exemplos de realização, o nível de TAMs ou células T CD8<sup>+</sup> é considerado “alto” se estiver acima do nível mediano encontrado em indivíduos com câncer. Em alguns exemplos de realização, se os níveis de TAM do paciente estiverem altos e os níveis de células T CD8<sup>+</sup> estiverem baixos, o paciente é selecionado para terapia combinada com um anticorpo anti-CSF1R e um inibidor de PD-1/PD-L1. O nível de células T CD8<sup>+</sup> é considerado “baixo” se estiver no nível mediano ou abaixo do encontrado em indivíduos com câncer. Em alguns exemplos de realização, o nível de células T CD8<sup>+</sup> é considerado “baixo” se estiver pelo menos 10%, pelo menos 20%, pelo menos 30%, pelo menos 40%, pelo menos 50%, pelo menos 75% ou pelo menos 100% mais baixo que o nível em um indivíduo que não tem câncer. Em alguns exemplos de realização, é determinada a expressão de CSF1R nos TAMs do paciente. Em alguns exemplos de realização, se os TAMs do paciente expressam CSF1R, o paciente é selecionado para terapia combinada. Em alguns exemplos de realização, se os TAMs do paciente expressam níveis elevados de CSF1R, o paciente é selecionado para terapia combinada. Em alguns exemplos de realização, considera-se que os TAMs do paciente expressam níveis “elevados” de CSF1R se o nível de CSF1R estiver acima ou no nível mediano de CSF1R encontrado expresso em TAMs em indivíduos com câncer. Em alguns exemplos de realização, se a expressão de CSF1R do paciente apresentar uma alta correlação com o nível de células T CD8<sup>+</sup>, células T ou expressão de PD-1/PD-L1, o paciente é selecionado para terapia combinada. A correlação das expressões é considerada “alta” se estiver acima ou no nível mediano encontrado em indivíduos com câncer.

[0188] Níveis de TAMs, expressão de CSF1R, células T CD8<sup>+</sup>, células T reguladoras e/ou expressão de PD-1 podem ser medidos pelos métodos conhecidos no estado da técnica. Métodos não exemplares incluem imuno-histoquímica (IHQ), separação de células ativadas por fluorescência (FACS), arranjos de proteínas e ensaios de expressão gênica, como sequenciamento de RNA, arranjos gênicos e PCR quantitativa. Em alguns exemplos de realização, um ou mais marcadores selecionados a partir de CSF1R, CD68, CD163, CD8, FoxP3, PD-1 e PD-L1 podem ser detectados por IHQ, FACS ou ensaios de expressão gênica em cortes histológicos de tumores ou células dissociadas a partir de cortes de tumores.

#### **REDUÇÃO DE DE MONÓCITOS NÃO CLÁSSICOS E CARGA TUMORAL**

[0189] Em alguns exemplos de realização, são fornecidos métodos de tratamento de câncer, por exemplo, tumores sólidos, por exemplo, câncer avançado (por exemplo, câncer metastático), compreendendo a administração a um sujeito com câncer, por exemplo, com tumores sólidos, por exemplo, com câncer avançado (por exemplo, com câncer metastático), uma quantidade terapeuticamente eficaz de um inibidor de CSF-1R, tal como um anticorpo, e um inibidor de PD-1/PD-L1, por exemplo, um anticorpo. Em certos exemplos de realização, um anticorpo anti-CSF1R é administrado em uma quantidade suficiente para reduzir, por exemplo, depletar, o número de monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> circulantes, por exemplo, para o número encontrado em indivíduos saudáveis (isto é, controles).

[0190] Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R e o anticorpo anti-PD-1 são administrados a um paciente com câncer, tal como um paciente com tumor sólido ou um paciente com câncer avançado ou um paciente com câncer no pâncreas, de modo que os níveis sanguíneos periféricos de monócitos CD16<sup>+</sup> ou os monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>++</sup> caem para menos de 10 monócitos por microlitro de sangue periférico dentro



de 3 dias da primeira administração de anticorpo e permanecem em menos de 10 monócitos por microlitro de sangue periférico por pelo menos mais 10 dias, tal como até a próxima dosagem de anticorpo anti-CSF1R. Em alguns exemplos de realização, os métodos aqui apresentados podem reduzir a carga tumoral em pacientes com câncer. Por exemplo, em pacientes com câncer pancreático, a carga tumoral pode ser reduzida em pelo menos 30% em alguns pacientes dentro de 50 a 100 dias desde o início do tratamento com uma combinação de um anticorpo anti-CSF1R e um anticorpo anti-PD-1. Em alguns exemplos de realização, pacientes com câncer pancreático tratados com 4 mg/kg de cabiralizumabe e 3 mg/kg de nivolumabe a cada 2 semanas, com ou sem quimioterapia, podem mostrar tais reduções nos monócitos CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup> e/ou carga tumoral. Em alguns exemplos de realização, pacientes com câncer pancreático tratados com 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 mg/kg de cabiralizumabe a cada 2 semanas e 300-600 mg de nivolumabe a cada 4 semanas, com ou sem quimioterapia, podem mostrar essas reduções nos monócitos CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup> e/ou na carga tumoral. Em alguns exemplos de realização, pacientes com câncer pancreático tratados com 4 mg/kg de cabiralizumabe a cada 2 semanas e 450-500 mg de nivolumabe a cada 4 semanas, com ou sem quimioterapia, podem mostrar tais reduções nos monócitos CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup> e/ou na carga tumoral. Em alguns exemplos de realização, o câncer pancreático é um câncer pancreático metastático que se espalhou para outros órgãos, como o fígado e/ou pulmão, e o tratamento pode permitir redução na carga tumoral (ou seja, diminuição do tamanho do tumor) em um ou mais locais de metástases, como no fígado ou pulmão.

#### **MÉTODOS ADICIONAIS DE TRATAMENTO DO CÂNCER**

[0191] A presente divulgação também abrange métodos de tratamento do câncer em um sujeito, compreendendo a administração ao sujeito de um inibidor de CSF1R ou CSF1, conforme descrito no presente

pedido, como um anticorpo anti-CSF1R, inibidor de CSF-1 ou um inibidor de CSF-1R, como descrito no presente pedido, em combinação com um inibidor de DP-1/PD-L1, tal como descrito no presente pedido, como um anticorpo anti-DP-1, um inibidor de PD-1 ou um inibidor de PD-L1, conforme descrito no presente pedido, em que o câncer foi determinado como estável para microssatélites (MSS) e/ou foi determinado com uma TMB menor que 20, menor que 15 ou menor que 10 mutações/megabase pelo ensaio *Foundation One*® CDx® ou com menos de 400, menos de 300, ou menos de 200 mutações *missense* por WES. A presente divulgação também abrange métodos de tratamento do câncer em um sujeito, cujo método compreende a administração ao sujeito de um anticorpo anti-CSF1R e um anticorpo anti-DP-1, em que o câncer foi determinado como sendo estável para microssatélites (MSS) e/ou foi determinado como possuindo uma TMB inferior a 20, inferior a 15 ou inferior a 10 mutações/megabase pelo ensaio *Foundation One*® CDx® e/ou com menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações *missense* por WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer foi determinado como sendo MSS e possuindo uma TMB inferior a 20, inferior a 15 ou inferior a 10 mutações/megabase pelo ensaio *Foundation One*® CDx® ou com menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações *missense* por WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer foi determinado como possuindo uma TMB inferior a 15 mutações/megabase pelo ensaio *Foundation One*® CDx® e/ou com menos de 300 mutações *missense* pelo WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer foi determinado como possuindo uma TMB inferior a 10 mutações/megabase pelo ensaio *Foundation One*® CDx® e/ou com menos de 200 mutações *missense* pelo WES. Geralmente, pacientes com câncer determinados como MSS e com TMB baixa, por exemplo, menor que 20, menor que 15 ou menor que 10 mutações/megabase pelo ensaio *Foundation One*® CDx® ou com menos de 400, menos de 300, ou menos de 200 mutações

*missense* por WES não responderam a monoterapia com inibidor de PD-1/PD-L1.

[0192] Em alguns desses métodos, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada que compreende uma CDR1 de cadeia pesada (HC) com a sequência de SEQ ID NO: 5, uma CDR2 HC com a sequência de SEQ ID NO: 6 e uma CDR3 HC com a sequência de SEQ ID NO: 7 e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) com a sequência de SEQ ID NO: 8, uma CDR2 LC com a sequência de SEQ ID NO: 9 e uma CDR3 LC com a sequência de SEQ ID NO: 10; e o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada que compreende uma CDR1 de cadeia pesada (HC) com a sequência de SEQ ID NO: 28, uma CDR2 HC com a sequência de SEQ ID NO: 30 e uma CDR3 HC com a sequência de SEQ ID NO: 32, e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) com a sequência de SEQ ID NO: 35, uma CDR2 LC com a sequência de SEQ ID NO: 37 e uma CDR3 LC com a sequência de SEQ ID NO: 39. Em alguns métodos, o anticorpo anti-CSF1R é um Fab, um fragmento Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub> e/ou o anticorpo anti-PD-1 é um Fab, um fragmento Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>. Em alguns desses métodos, a cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 23 e em que a cadeia leve do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 25. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 23 e 24; e em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 25 e 26. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é o nivolumabe ou pembrolizumabe ou PDR001. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia pesada

compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 11; e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 12. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 13; e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 14. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é o cabiralizumabe. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é emactuzumabe (RG7155), AMG 820 ou SNDX 6352 (UCB 6352) ou outro anticorpo anti-CSF1R, ou é substituído por um inibidor de CSF1R ou inibidor de CSF1, conforme descrito no presente, tal como uma molécula pequena, por exemplo, JNJ-40346527 (agora PRV-6527), por exemplo, um inibidor tirosina quinase anti-CSF1R, ou outra modalidade.

[0193] Em alguns dos métodos mencionados acima, o anticorpo anti-PD-1 é administrado ao sujeito antes do anticorpo anti-CSF1R. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é administrado de 30 minutos a 120 minutos após o inibidor de PD-1. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é infundido por um período de 30-60 minutos e o anticorpo anti-CSF1R é infundido por um período de 30-60 minutos. Em alguns exemplos de realização, a infusão do anticorpo anti-CSF1R é iniciada 30-120 minutos após o final da infusão do anticorpo anti-PD-1. Em alguns exemplos de realização, a infusão do anticorpo anti-CSF1R é iniciada 30-60 minutos (por exemplo, 30 minutos) após o final da infusão do anticorpo anti-PD-1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito recebeu anteriormente uma terapia com inibidor de PD-1/PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é um mau respondedor ao inibidor de PD-1/PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é refratário a um inibidor de PD-1/PD-L1, por exemplo, após pelo menos 2 doses. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é cabiralizumabe e o anticorpo anti-PD-1 é nivolumabe, em que o cabiralizumabe

é administrado na dose de 4 mg/kg uma vez a cada duas semanas e o nivolumabe é administrado na dose de 3 mg/kg uma vez a cada duas semanas. Em alguns exemplos de realização, o câncer é câncer pancreático, câncer de ovário, câncer renal, glioma maligno, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC) ou carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço (SCCHN). Em alguns exemplos de realização, o câncer é o câncer pancreático.

**MÉTODO PARA DETERMINAR A RESPONSABILIDADE A TERAPIA COMBINADA COM  
ANTICORPOS ANTI-CSF1R E ANTI-DP-1**

[0194] A presente divulgação também contempla métodos de tratamento do câncer em um sujeito, compreendendo administrar ao sujeito pelo menos uma dose de um inibidor de CSF1R ou CSF1 conforme descrito na presente invenção, como um anticorpo anti-CSF1R, inibidor de CSF-1 ou um inibidor de CSF-1R, tal como descrito na presente invenção, em combinação com um inibidor de PD-1/PD-L1 como descrito na presente invenção, tal como um anticorpo anti-DP-1, um inibidor de PD-1 ou um inibidor de DP-L1, conforme descrito na presente invenção, (por exemplo, administrar ao sujeito um anticorpo anti-CSF1R e um anticorpo anti-PD-1), como, por exemplo, em uma dose única ou em duas doses, em que o nível de expressão de pelo menos um gene marcador é determinado tanto antes quanto após a administração, e pelo menos um gene marcador compreendendo um ou mais dentre: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1, TNF, CD72, CD79A, CD79B, MS4A1, TNFRSF17, CD3D, CD8A, CD8B, GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7, PRF1, BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT e FOXP3. Se os dados do nível de expressão indicarem que o nível de expressão de pelo menos um gene marcador aumenta após a administração, a administração do tratamento, por exemplo, anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1, ao sujeito pode continuar. Alguns exemplos de

realização compreendem um método de tratamento de câncer em um sujeito, compreendendo a administração ao sujeito de pelo menos uma dose de um inibidor de CSF1R ou CSF1 conforme descrito na presente invenção, como um anticorpo anti-CSF1R, inibidor de CSF-1 ou um inibidor de CSF-1R, conforme descrito na presente invenção, em combinação com um inibidor de DP-1/PD-L1, tal como um anticorpo anti-DP-1, um inibidor de PD-1 ou um inibidor de DP-L1, conforme descrito na presente invenção, tal como um anticorpo anti-CSF1R e um anticorpo anti-PD-1, tal como em uma ou duas doses, em que o nível de expressão de pelo menos um gene marcador é determinado para aumentar após a administração, e o pelo menos um gene marcador compreende um ou mais dentre: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1, TNF, CD72, CD79A, CD79B, MS4A1, TNFRSF17, CD3D, CD8A, CD8B, GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7, PRF1, BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT e FOXP3; e, em seguida, a administração do tratamento, tal como do anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1, ao sujeito é continuada. Em exemplos de realização adicionais, o método compreende primeiro determinar ou ter determinado o nível de expressão de pelo menos um gene marcador que compreende um ou mais dentre: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1, TNF, CD72, CD79A, CD79B, MS4A1, TNFRSF17, CD3D, CD8A, CD8B, GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7, PRF1, BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT e FOXP3, e então administrando pelo menos uma dose do tratamento combinado, tal como o anticorpo anti-CSF1R e o anticorpo anti-PD-1, como uma ou duas doses, e depois redeterminando ou determinando o nível de expressão do pelo menos um gene marcador. Se os dados do nível de expressão indicarem que o nível de expressão de pelo menos um gene marcador aumenta após a

administração, a administração do tratamento, por exemplo, um anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1, ao sujeito pode continuar. Em exemplos de realização adicionais, o método compreende primeiro determinar ou ter determinado o nível de expressão de pelo menos um gene marcador que compreende um ou mais dentre: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1, TNF, CD72, CD79A, CD79B, MS4A1, TNFRSF17, CD3D, CD8A, CD8B, GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7, PRF1, BTLA, CD24, CDL4, LAG3, PDCD1, TIGIT e FOXP3, em seguida, administrar pelo menos uma dose de um inibidor de CSF1R ou CSF1 como descrito na presente invenção, tal como um anticorpo anti-CSF1R, um inibidor de CSF-1 ou inibidor de CSF-1R, tal como descrito na presente invenção, em combinação com um inibidor de PD-1/PD-L1, como um anticorpo anti-PD-1, um inibidor de PD-1 ou um inibidor de PD-L1, conforme descrito na presente invenção, como um anticorpo anti-CSF1R e um anticorpo anti-PD-1, tal como uma ou duas doses, e, em seguida, determinando que o nível de expressão do pelo menos um gene marcador aumentou após a administração, seguido por administração adicional do tratamento, tal como um anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1, ao sujeito.

[0195] Em qualquer um dos métodos acima, o pelo menos um gene marcador pode compreender: (a) pelo menos um gene marcador pró-inflamatório compreendendo: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1 e TNF, (b) pelo menos um marcador de célula B compreendendo: CD72, CD79A, CD79B, MS4A1 e TNFRSF17, (c) pelo menos um marcador de célula T CD8 compreendendo: CD3D, CD8A e CD8B, (d) pelo menos um marcador de célula T efetora citolítica compreendendo: GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7 e PRF1; e/ou (e) pelo menos um marcador do

receptor de célula T efetora compreendendo: BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT e FOXP3. Nos métodos acima, o pelo menos um gene marcador pode compreender ainda a medição do nível de expressão de um ou mais de CSF1R, CSF-1 e IL-34, em que os aumentos nos níveis de expressão de CSF-1 e IL-34 após a administração indicam que o sujeito é sensível ao tratamento, enquanto que uma diminuição no nível de expressão de CSF1R indica que o sujeito não é sensível ao tratamento. Em alguns exemplos de realização, os métodos compreendem ainda determinar o nível de expressão de um ou mais marcadores anti-inflamatórios compreendendo: ARG1, C5AR1, CD14, CD163, CXCR1, CXCR2, IL1A, IL1RN, IL8, MRC1, MSR1, PF4, PPBP, S100A12, S100A8, SAA1, S100A9 e TGFB1. Em alguns exemplos de realização, os níveis desses marcadores não mudam ou não aumentam nos sujeitos responsivos ao tratamento.

[0196] Em qualquer um dos métodos acima, o nível de expressão de pelo menos um gene marcador pode ser medido por sequenciamento de RNA de RNA extraído ou presente em amostras de biópsia de tumor. Em alguns exemplos de realização, o nível de expressão do pelo menos um gene marcador pode ser medido no nível da proteína, como por imuno-histoquímica (IHQ) em uma amostra de tumor. Em alguns exemplos de realização, as amostras de biópsia de tumor são obtidas do sujeito antes do início do tratamento e após cerca de 4 semanas de tratamento (ou duas doses Q2W).

[0197] Em alguns exemplos de realização, a concentração periférica de ligantes de CSF1R (CSF-1 e IL34) e/ou o nível de monócitos não clássicos ( $CD14^{DIM} CD16^{BRIGHT}$ ; isto é,  $CD14^{+}CD16^{++}$ ) são medidos em indivíduos antes e após a administração da terapia combinada descrita acima, opcionalmente em conjunto com a medição dos níveis de expressão do gene marcador acima. As alterações nas concentrações periféricas de ligantes de CSF1R podem ser medidas por ensaio imunoadsorvente enzima-associado



(ELISA) e alterações em monócitos não clássicos podem ser medidas por citometria de fluxo, por exemplo. Um nível mais baixo de concentração periférica de um ligante de CSF1R e/ou nível de monócitos não clássicos, por exemplo, após uma ou duas doses de tratamento ou 4 semanas em tratamento em relação ao nível basal antes do início do tratamento, pode indicar que o paciente responde ao tratamento. Os métodos de tratamento podem incluir a medição da concentração periférica de ligantes do CSF1R e/ou o nível de monócitos não clássicos.

[0198] Em alguns exemplos de realização, os níveis de expressão de RNA de CSF1R e/ou seus ligantes CSF-1 e IL34 são medidos em indivíduos antes e após a administração da terapia combinada descrita acima, opcionalmente em conjunto com a medição dos níveis de expressão do gene marcador acima e/ou opcionalmente em conjunto com a medição da concentração periférica dessas moléculas ou do nível de monócitos não clássicos. As alterações nesses níveis de expressão podem ser medidas por sequenciamento de RNA extraído do nosso encontrado em amostras de biópsia de tumor, por exemplo. Em alguns exemplos de realização, as amostras de biópsia de tumor são obtidas do sujeito antes do início do tratamento e após cerca de 4 semanas de tratamento (ou duas doses Q2W). Um aumento na expressão de CSF-1 e/ou IL-34, por exemplo, após uma ou duas doses de tratamento ou 4 semanas de tratamento em relação ao nível basal antes do início do tratamento, pode indicar que o paciente responde ao tratamento. Um aumento na expressão de CSF1R nesse mesmo período pode indicar que o paciente não responde.

[0199] Em qualquer um dos métodos de tratamento do câncer acima, o câncer pode ter sido determinado como MSS e/ou ter sido determinado como tendo uma TMB inferior a 20, inferior a 15 ou inferior a 10 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio Foundation One®

CDx®; e/ou com menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações de sentido errado ou trocado (*missense*), conforme determinado pelo WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer foi determinado como sendo MSS e possuindo uma TMB inferior a 20, inferior a 15 ou inferior a 10 mutações/megabase pelo ensaio *Foundation One*® CDx® ou com menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações *missense* por WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer foi determinado como possuindo uma TMB inferior a 15 mutações/megabase pelo ensaio *Foundation One*® CDx® e/ou com menos de 300 mutações *missense* pelo WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer foi determinado como possuindo uma TMB inferior a 10 mutações/megabase pelo ensaio *Foundation One*® CDx® e/ou com menos de 200 mutações *missense* pelo WES.

[0200] Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R pode compreender uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) com a sequência de SEQ ID NO: 5, uma CDR2 HC com a sequência de SEQ ID NO: 6 e uma CDR3 HC com a sequência de SEQ ID NO: 7 e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) com a sequência de SEQ ID NO: 8, uma CDR2 LC com a sequência de SEQ ID NO: 9 e uma CDR3 LC com a sequência de SEQ ID NO: 10; e o anticorpo anti-PD-1 pode compreender uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) com a sequência de SEQ ID NO: 28, uma CDR2 HC com a sequência de SEQ ID NO: 30 e uma CDR3 HC com a sequência de SEQ ID NO: 32, e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) com a sequência de SEQ ID NO: 35, uma CDR2 LC com a sequência de SEQ ID NO: 37 e uma CDR3 LC com a sequência de SEQ ID NO: 39. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>. Em alguns exemplos de realização, a

cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 23 e em que a cadeia leve do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 25. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 23 e 24; e em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 25 e 26. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é o nivolumabe ou pembrolizumabe ou PDR001. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 11; e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 12. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 13; e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 14. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é o cabiralizumabe. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é emactuzumabe (RG7155), AMG 820 ou SNDX 6352 (UCB 6352) ou outro anticorpo anti-CSF1R, ou é então um inibidor de CSF1R ou inibidor de CSF1, conforme descrito no presente, tal como uma molécula pequena, por exemplo, JNJ-40346527 (agora PRV-6527), por exemplo, um inibidor tirosina quinase anti-CSF1R, ou outra modalidade.

[0201] Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é administrado ao sujeito antes do anticorpo anti-CSF1R. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é administrado de 30 minutos a 120 minutos após o inibidor de PD-1. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é infundido por um período de 30-60 minutos e o anticorpo

anti-CSF1R é infundido por um período de 30-60 minutos. Em alguns exemplos de realização, a infusão do anticorpo anti-CSF1R é iniciada 30-120 minutos após o final da infusão do anticorpo anti-PD-1. Em alguns exemplos de realização, a infusão do anticorpo anti-CSF1R é iniciada 30-60 minutos (por exemplo, 30 minutos) após o final da infusão do anticorpo anti-PD-1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito recebeu anteriormente uma terapia com inibidor de PD-1/PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é um mau respondedor ao inibidor de PD-1/PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é refratário a um inibidor de PD-1/PD-L1, por exemplo, após pelo menos 2 doses. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é cabiralizumabe e o anticorpo anti-PD-1 é nivolumabe, em que o cabiralizumabe é administrado na dose de 4 mg/kg uma vez a cada duas semanas e o nivolumabe é administrado na dose de 3 mg/kg uma vez a cada duas semanas. Em alguns exemplos de realização, o câncer é câncer pancreático, câncer de ovário, câncer renal, glioma maligno, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC) ou carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço (SCCHN). Em alguns exemplos de realização, o câncer é o câncer pancreático.

[0202] A presente divulgação também inclui um método para determinar ou prever a responsividade de um indivíduo com câncer ao tratamento com um inibidor de CSF1R ou CSF1, conforme descrito na presente invenção, como um anticorpo anti-CSF1R, inibidor de CSF-1 ou um inibidor de CSF-1R conforme descrito na presente invenção, em combinação com um inibidor de PD-1/PD-L1, como um anticorpo anti-PD-1, um inibidor de PD-1 ou um inibidor de PD-L1 conforme descrito na presente invenção, como com uma combinação de um anticorpo anti-CSF1R e um anticorpo anti-PD-1, cujo método compreende a determinação do nível de expressão de pelo menos um gene marcador antes e depois que o sujeito é administrado com pelo menos uma dose do tratamento combinado, em que o pelo menos um gene marcador

compreende um ou mais dentre: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1, TNF, CD72, CD79A, CD79B, MS4A1, TNFRSF17, CD3D, CD8A, CD8B, GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7, PRF1, BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT e FOXP3. Um aumento no nível de expressão do pelo menos um gene marcador indica a capacidade de resposta (responsividade) em alguns exemplos de realização. Em qualquer um dos métodos acima, o pelo menos um gene marcador compreende: (a) pelo menos um gene marcador pró-inflamatório compreendendo: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1 e TNF, (b) pelo menos um marcador de célula B compreendendo: CD72, CD79A, CD79B, MS4A1 e TNFRSF17, (c) pelo menos um marcador de célula T CD8 compreendendo: CD3D, CD8A e CD8B, (d) pelo menos um marcador de célula T efetora citolítica compreendendo: GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7 e PRF1; e/ou (e) pelo menos um marcador do receptor de célula T efetora compreendendo: BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT e FOXP3. Em alguns exemplos de realização, os métodos referidos acima podem compreender adicionalmente a medição do nível de uma expressão ou mais dentre CSF1R, CSF-1 e IL-34, em que aumentos nos níveis de expressão de CSF-1 e IL-34 após a administração indicam que o sujeito é sensível ao tratamento com o anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1, enquanto uma diminuição no nível de expressão de CSF1R indica que o sujeito não responde ao tratamento com o anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1. Em alguns exemplos de realização, os métodos compreendem ainda determinar o nível de expressão de um ou mais marcadores anti-inflamatórios compreendendo: ARG1, C5AR1, CD14, CD163, CXCR1, CXCR2, IL1A, IL1RN, IL8, MRC1, MSR1, PF4, PPBP, S100A12, S100A8, SAA1, S100A9 e TGFB1. Em alguns exemplos de realização, os

níveis desses marcadores não mudam ou não aumentam nos sujeitos responsivos ao tratamento com o anticorpo anti-CSF1R e o anticorpo anti-PD-1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é administrado com uma ou duas doses do anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1 entre as determinações do nível de expressão do pelo menos um gene marcador. Em alguns exemplos de realização, os métodos compreendem ainda determinar o nível de expressão de um ou mais marcadores anti-inflamatórios compreendendo: ARG1, C5AR1, CD14, CD163, CXCR1, CXCR2, IL1A, IL1RN, IL8, MRC1, MSR1, PF4, PPBP, S100A12, S100A8, SAA1, S100A9 e TGFB1. Em alguns exemplos de realização, os níveis desses marcadores não mudam ou não aumentam nos sujeitos responsivos ao tratamento com o anticorpo anti-CSF1R e o anticorpo anti-PD-1. Em qualquer um dos métodos acima, o nível de expressão de pelo menos um gene marcador pode ser o nível de expressão de RNA, por exemplo, medido por análise de transcriptoma ou PCR de transcrição reversa. Em qualquer um dos métodos acima, o câncer pode ter sido determinado como MSS e/ou ter sido determinado como tendo uma TMB inferior a 20, inferior a 15 ou inferior a 10 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio Foundation One<sup>®</sup> CDx<sup>®</sup>; e/ou com menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações de sentido errado ou trocado (*missense*), conforme determinado pelo WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer foi determinado como sendo MSS e possuindo uma TMB inferior a 20, inferior a 15 ou inferior a 10 mutações/megabase pelo ensaio Foundation One<sup>®</sup> CDx<sup>®</sup> ou com menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações *missense* por WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer foi determinado como possuindo uma TMB inferior a 15 mutações/megabase pelo ensaio Foundation One<sup>®</sup> CDx<sup>®</sup> e/ou com menos de 300 mutações *missense* pelo WES. Em alguns exemplos de realização, o câncer foi determinado como possuindo uma TMB inferior a 10

mutações/megabase pelo ensaio *Foundation One*<sup>®</sup> CDx<sup>®</sup> e/ou com menos de 200 mutações *missense* pelo WES.

[0203] Em qualquer um dos métodos acima, o nível de expressão de pelo menos um gene marcador pode ser medido por sequenciamento de RNA de RNA extraído ou presente em amostras de biópsia de tumor. Em alguns exemplos de realização, o nível de expressão do pelo menos um gene marcador pode ser medido no nível da proteína, como por imuno-histoquímica (IHQ) em uma amostra de tumor. Em alguns exemplos de realização, as amostras de biópsia de tumor são obtidas do sujeito antes do início do tratamento e após cerca de 4 semanas de tratamento (ou duas doses Q2W).

[0204] Em alguns exemplos de realização, determinar ou prever a responsividade envolve medir a concentração periférica de ligantes de CSF1R (CSF-1 e IL34) e/ou o nível de monócitos não clássicos (CD14<sup>DIM</sup> CD16<sup>BRIGHT</sup>; isto é, CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup>) nos sujeitos antes e após a administração da terapia combinada descrita acima, opcionalmente em conjunto com a medição dos níveis de expressão do gene marcador acima. As alterações nas concentrações periféricas de ligantes de CSF1R podem ser medidas por ensaio imunoadsorvente enzima-associado (ELISA) e alterações em monócitos não clássicos podem ser medidas por citometria de fluxo, por exemplo. Um nível mais baixo de concentração periférica de um ligante de CSF1R e/ou nível de monócitos não clássicos, por exemplo, após uma ou duas doses de tratamento ou 4 semanas em tratamento em relação ao nível basal antes do início do tratamento, pode indicar que o paciente responde ao tratamento. Os métodos de tratamento podem incluir a medição da concentração periférica de ligantes do CSF1R e/ou o nível de monócitos não clássicos.

[0205] Em alguns exemplos de realização, os níveis de expressão de RNA de CSF1R e/ou seus ligantes CSF-1 e IL34 são medidos em indivíduos antes e após a administração da terapia combinada descrita acima,

opcionalmente em conjunto com a medição dos níveis de expressão do gene marcador acima e/ou opcionalmente em conjunto com a medição da concentração periférica dessas moléculas ou do nível de monócitos não clássicos, como um meio de determinar ou prever a responsividade ao tratamento combinado. As alterações nesses níveis de expressão podem ser medidas por sequenciamento de RNA extraído do nosso encontrado em amostras de biópsia de tumor, por exemplo. Em alguns exemplos de realização, as amostras de biópsia de tumor são obtidas do sujeito antes do início do tratamento e após cerca de 4 semanas de tratamento (ou duas doses Q2W). Um aumento na expressão de CSF-1 e/ou IL-34, por exemplo, após uma ou duas doses de tratamento ou 4 semanas de tratamento em relação ao nível basal antes do início do tratamento, pode indicar que o paciente responde ao tratamento. Um aumento na expressão de CSF1R nesse mesmo período pode indicar que o paciente não responde.

[0206] Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R pode compreender uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) com a sequência de SEQ ID NO: 5, uma CDR2 HC com a sequência de SEQ ID NO: 6 e uma CDR3 HC com a sequência de SEQ ID NO: 7 e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) com a sequência de SEQ ID NO: 8, uma CDR2 LC com a sequência de SEQ ID NO: 9 e uma CDR3 LC com a sequência de SEQ ID NO: 10; e o anticorpo anti-PD-1 pode compreender uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) com a sequência de SEQ ID NO: 28, uma CDR2 HC com a sequência de SEQ ID NO: 30 e uma CDR3 HC com a sequência de SEQ ID NO: 32, e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) com a sequência de SEQ ID NO: 35, uma CDR2 LC com a sequência de SEQ ID NO: 37 e uma CDR3 LC com a sequência de SEQ ID NO: 39. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é um fragmento Fab, Fv, scFv,



Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>. Em alguns exemplos de realização, a cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 23 e em que a cadeia leve do anticorpo anti-PD-1 compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 25. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 23 e 24; e em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 25 e 26. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-PD-1 é o nivolumabe ou pembrolizumabe ou PDR001. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 11; e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 12. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 13; e em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 14. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é o cabiralizumabe. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é emactuzumabe (RG7155), AMG 820 ou SNDX 6352 (UCB 6352) ou outro anticorpo anti-CSF1R, ou então é um inibidor de CSF1R ou inibidor de CSF1, conforme descrito no presente, tal como uma molécula pequena, por exemplo, JNJ-40346527 (agora PRV-6527), por exemplo, um inibidor tirosina quinase anti-CSF1R, ou outra modalidade.

[0207] Em alguns exemplos de realização, o sujeito recebeu anteriormente uma terapia com inibidor de PD-1/PD-L1. Em alguns exemplos de realização, o sujeito é um mau respondedor ao inibidor de PD-1/PD-L1. Em

alguns exemplos de realização, o sujeito é refratário a um inibidor de PD-1/PD-L1, por exemplo, após pelo menos 2 doses. Em alguns exemplos de realização, o anticorpo anti-CSF1R é cabiralizumabe e o anticorpo anti-PD-1 é nivolumabe, em que o cabiralizumabe é administrado na dose de 4 mg/kg uma vez a cada duas semanas e o nivolumabe é administrado na dose de 3 mg/kg uma vez a cada duas semanas. Em alguns exemplos de realização, o câncer é câncer pancreático, câncer de ovário, câncer renal, glioma maligno, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC) ou carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço (SCCHN). Em alguns exemplos de realização, o câncer é o câncer pancreático.

#### **VIAS DE ADMINISTRAÇÃO E VEÍCULOS**

[0208] Em vários exemplos de realização, os anticorpos podem ser administrados *in vivo* por várias vias/rotas de administração, incluindo, mas não se limitando a, oral, intra-arterial, parenteral, intranasal, intravenosa, intramuscular, intracardíaca, intraventricular, intratraqueal, bucal, retal, intraperitoneal, intradérmica, tópica, transdérmica e intratecal, ou de outro modo, por implante ou inalação. As composições da presente invenção podem ser formuladas em preparações nas formas sólidas, semissólidas, líquidas ou gasosas; incluindo, mas não limitando a, comprimidos, cápsulas, pó, grânulos, pomadas, soluções, supositórios, enemas, injeções, inalantes e aerossóis.

[0209] Em vários exemplos de realização, são proporcionadas composições compreendendo anticorpos em formulações com uma grande variedade de veículos farmaceuticamente aceitáveis (vide, por exemplo, Gennaro, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus*, 20<sup>a</sup> ed. (2003); Ansel *et al.*, *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7<sup>a</sup> ed., Lippencott Williams & Wilkins (2004); Kibbe *et al.*, *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 3<sup>a</sup> ed., Pharmaceutical Press (2000)). Vários transportadores farmaceuticamente

aceitáveis, que incluem veículos, adjuvantes e diluentes, estão disponíveis. Além disso, também estão disponíveis várias substâncias auxiliares farmaceuticamente aceitáveis, tais como agentes de ajuste e tamponamento de pH, agentes de ajuste de tonicidade, estabilizantes, agentes umectantes e similares. Exemplos de veículos não limitantes da invenção incluem solução salina, solução salina tamponada, dextrose, água, glicerol, etanol e combinações dos mesmos.

[0210] Em vários exemplos de realização, as composições que compreendem anticorpos podem ser formuladas para injeção, incluindo administração subcutânea, dissolvendo, suspendendo ou emulsionando-as em um solvente aquoso ou não aquoso, tais como óleos vegetais ou outros óleos, glicerídeos de ácido alifático sintéticos, ésteres de ácidos alifáticos superiores, ou propileno glicol; e se desejado, com aditivos convencionais tais como solubilizantes, agentes isotônicos, agentes de suspensão, agentes emulsionantes, estabilizadores e conservantes. Em diversos exemplos de realização, as composições podem ser formuladas para inalação, por exemplo, utilizando propulsores aceitáveis pressurizados, tais como diclorodifluorometano, propano, nitrogênio e similares. As composições também podem ser formuladas, em vários exemplos de realização, em microcápsulas de liberação sustentada, tais como com polímeros biodegradáveis ou não biodegradáveis. Uma formulação biodegradável exemplificativa não limitativa inclui polímero de ácido polilático-ácido glicólico. Uma formulação não biodegradável exemplificativa não limitativa inclui um éster de ácido graxo de poliglicerina. Alguns métodos para produção de tais formulações estão descritos, por exemplo, na EP 1 125 584 A1.

[0211] Embalagens farmacêuticas e kits compreendendo um ou mais recipientes, contendo cada uma ou mais doses de um anticorpo ou combinação de anticorpos também são fornecidos. Em alguns exemplos de

realização, é proporcionada uma dosagem unitária em que a dosagem unitária contém uma quantidade predeterminada de uma composição compreendendo um anticorpo ou combinação de anticorpos, com ou sem um ou mais agentes adicionais. Em alguns exemplos de realização, tal dose unitária é fornecida em uma seringa pré-preenchida de uso único para injeção, por exemplo, como um kit. Em vários exemplos de realização, a composição contida na dosagem unitária pode compreender solução salina, sacarose ou similar; um tampão, tal como fosfato, ou similar; e/ou ser formulada dentro de um intervalo de pH estável e eficaz. Alternativamente, em alguns exemplos de realização, a composição pode ser proporcionada como um pó liofilizado que pode ser reconstituído após a adição de um líquido apropriado, por exemplo, água estéril. Em alguns exemplos de realização, a composição compreende uma ou mais substâncias que inibem a agregação de proteínas, incluindo, mas não se limitando a, sacarose e arginina. Em alguns exemplos de realização, uma composição da invenção compreende heparina e/ou um proteoglicano.

#### **TERAPIA COMBINADA ADICIONAL**

[0212] Os anticorpos podem ser administrados sozinhos ou com outros modos de tratamento. Eles podem ser fornecidos antes, substancialmente ao mesmo tempo ou após outros modos de tratamento, por exemplo, cirurgia, quimioterapia adicional, radioterapia ou a administração de um produto biológico, como outro anticorpo terapêutico. Em alguns exemplos de realização, o câncer reincidiu ou progrediu após uma terapia selecionada a partir de cirurgia, quimioterapia e radioterapia, ou uma combinação das mesmas.

[0213] Para o tratamento do câncer, conforme discutido no presente pedido, o anticorpos podem ser administrados em conjunto com um ou mais agentes anticâncer adicionais, como o agente quimioterápico, agente inibidor do crescimento, agente antiangiogênese e/ou composição

antineoplásicas. Exemplos não limitantes de agentes quimioterápicos, agentes inibidores do crescimento, agentes antiangiogênese, agentes anticâncer e composição antineoplásicas que podem ser usados em combinação com os anticorpos da presente invenção são fornecidos no presente pedido na seção “Definições”.

### **EXEMPLOS**

[0214] Os exemplos discutidos abaixo são destinados a ser puramente exemplificativos da invenção e de forma alguma devem ser considerados como limitantes da invenção. Os exemplos não se destinam a representar que os experimentos abaixo foram todos ou os únicos experimentos realizados. Esforços têm sido feitos para assegurar a acurácia em relação aos números usados (por exemplo, quantidades, temperatura, etc), mas alguns erros e desvios experimentais devem ser considerados. Salvo quando indicado de outra forma, as partes são partes em peso, o peso molecular é o peso molecular médio, a temperatura está em graus Centígrados e a pressão é a atmosférica ou próxima desta.

### **EXEMPLO 1**

#### **COMBINAÇÃO DE CABIRALIZUMABE E NIVOLUMABE EM PACIENTES COM CÂNCER**

#### **PANCREÁTICO AVANÇADO**

[0215] Como parte de um estudo de escalonamento de dose de fase 1a, NCT02526017, um protocolo completo para o qual é fornecido abaixo no Exemplo 3 e resumido no Exemplo 2, pacientes com tumores sólidos avançados foram tratados com cabiralizumabe nas doses de 1, 2, 4 e 6 mg/kg isoladamente e, em seguida, em combinação com nivolumabe 3 mg/kg. Ambos os anticorpos foram administrados por via intravenosa, uma vez a cada duas semanas (IV Q2W), em um desenho de estudo 3+3+3. A expansão da dose está em andamento em vários tipos de tumores sólidos. Em agosto de 2017, 205 pacientes foram tratados com uma combinação de cabiralizumabe e

nivolumabe. A maioria recebeu 4 mg/kg de Q2W de cabiralizumabe mais 3 mg/kg de Q2W de nivolumabe. O cabiralizumabe, sozinho ou com nivolumabe, demonstrou depuração mediada pelo alvo e aumento da exposição dose-dependente e atividade farmacodinâmica, conforme evidenciado pela redução de monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>+</sup> circulantes. Os eventos adversos relacionados ao tratamento (TRAEs) de graus 3–5 atribuídos ao cabiralizumabe ocorreram em 43% dos pacientes, com 13% dos pacientes descontinuando devido a eventos adversos (AEs). As elevações na creatinina fosfoquinase (14%) e aspartato aminotransferase (AST) (7%) estavam entre os TRAEs de grau 3 mais comuns, mas eram secundários à depleção de macrófagos pelo cabiralizumabe e eram reversíveis sem sequelas clínicas significativas.

[0216] Dentre a coorte de pacientes tratados com quimioterapia prévia e virgens de imunoterapia com câncer pancreático, 31 eram avaliáveis quanto a eficácia. Houve 3 respostas parciais confirmadas em pacientes estáveis para microssatélites (293, 275 e 168 dias no estudo) e 1 doença estável prolongada (182 dias); Um paciente tratado além da doença progressiva apresentou redução > 40% nas lesões alvo basais (247 dias em estudo). A taxa de controle da doença em 6 meses foi de 13% e a taxa de resposta objetiva foi de 10%.

[0217] Com base nesses dados até agora, o cabiralizumabe mais o nivolumabe demonstraram um perfil de segurança tolerável em várias coortes e promissora atividade antitumoral preliminar no câncer pancreático. Esses resultados mostram uma estratégia imunoterapêutica potencial para tratar pacientes com tumores resistentes ao bloqueio anti-PD-1.

## **EXEMPLO 2**

### **TERAPIA COMBINADA COM UM ANTICORPO ANTI-CSF1R E UM ANTICORPO ANTI-**

#### **DP-1**

[0218] Este exemplo resume um protocolo clínico de Fase 1 para

uma combinação de cabiralizumabe e nivolumabe, e foi anteriormente divulgado como Exemplo 6 na Publicação Internacional WO2016/069727.

[0219] O anticorpo anti-CSF1R cabiralizumabe (um anticorpo que compreende regiões variáveis de cadeia pesada e de cadeia leve de SEQ ID NOs: 13 e 14) é administrado em combinação com um anticorpo anti-PD-1, nivolumabe (compreendendo as sequências de cadeia pesada e de cadeia leve de SEQ ID NOs: 23 e 24 e 26 e 26), em dosagens crescentes em sujeitos com uma variedade de tipos tumorais, incluindo NSCLC, melanoma, SCCHN, câncer de bexiga e câncer pancreático. O anticorpo anti-CSF1R é administrado em doses variando de 1 mg/kg a 10 mg/kg. O anticorpo anti-CSF1R e o anticorpo anti-PD-1 são dosados ao mesmo tempo a cada 2 semanas.

[0220] Anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1 são administrados para três subconjuntos de pacientes com melanoma: não expostos ou *naïves* (nunca receberam qualquer anticorpo), resistência adquirida (progrediram após uma resposta inicial do anticorpo anti-PD-1) e resistência *de novo* (não responderam a terapia com inibidor de PD-1/PD-L1).

[0221] Biópsias com agulhas grossas pré- e pós-tratamento são obtidas em um subconjunto de sujeitos para avaliar alterações potenciais em células imunes, estroma e células tumorais após tratamento. Em adição a coloração com hematoxilina e eosina para avaliar a celularidade total do tumor, são usados ensaios específicos para monitorar os números de macrófagos e subtipos. Os pacientes são adicionalmente monitorados quanto a resposta global, resposta imunológica e sobrevida global.

[0222] Para alguns, a maioria ou todos os pacientes, o número de células T CD8<sup>+</sup> aumenta após tratamento com a combinação e/ou o número de células T<sub>reg</sub> diminui após tratamento com a combinação. Além disso, para alguns, a maioria ou todos os pacientes, o número de macrófagos M2 que aumenta o tumor diminui e o número de macrófagos M1 que suprime o tumor

aumenta após o tratamento com a combinação. Finalmente, para alguns, a maioria ou todos os pacientes, a necrose tumoral aumenta após o tratamento com a combinação.

### **EXEMPLO 3**

#### **RESUMO DE UM ENSAIO CLÍNICO DE MONOTERAPIA E TERAPIA COMBINADA COM UM ANTICORPO ANTI-CSF1R E UM ANTICORPO ANTI-PD-1**

[0223] Este exemplo provê um protocolo clínico de Fase 1 mais detalhado para uma combinação de cabiralizumabe e nivolumabe, e foi anteriormente divulgado como Exemplo 7 na Publicação Internacional WO2016/069727.

[0224] O anticorpo anti-CSF1R cabiralizumabe é dado como monoterapia e em combinação com o anticorpo anti-PD-1 nivolumabe em pacientes com cânceres avançados selecionados e que não receberam anteriormente um inibidor da via de CSF1R, em um estudo aberto, multicêntrico, de escalonamento de dose e de expansão de dose. O nivolumabe foi anteriormente aprovado para uso em melanoma, NSCLC metastático e em combinação com ipilimumabe, um anticorpo anti-CTLA-4, para o tratamento de melanoma metastático. Para os braços de combinação do estudo, cabiralizumabe e nivolumabe serão dados no Dia 1 de cada ciclo de tratamento de 14 dias; nivolumabe será dado como uma infusão IV primeiro por 30 minutos, com um repouso de 30 minutos entre 2 infusões, seguido por uma infusão de cabiralizumabe IV de 30 minutos.

[0225] A primeira fase do estudo (Fase 1a) compreende duas coortes de referência de monoterapia com cabiralizumabe (1aM1 e 1aM2) e três coortes de escalonamento de dose de cabiralizumabe em combinação com nivolumabe (1aC1, 1aC2 e 1aC3). A segunda fase do estudo (Fase 1b) compreende oito coortes (1b1 até 1b8) em seis tipos de câncer. Aproximadamente um total de 270 pacientes irão participar no estudo, 30 na



primeira fase e 240 na segunda fase com 30 em cada uma das 8 coortes da segunda fase. Pacientes individuais serão inscritos em não mais que um dos braços do estudo 1aM, 1aC ou 1b. A Figura 6 mostra um desenho esquemático do projeto de estudo.

[0226] Na Fase 1a, são dados aos pacientes de monoterapia nas coortes 1aM1 e 1aM2, 2 mg/Kg ou 4 mg/Kg de cabiralizumabe uma vez a cada 14 dias (q2w). Para as coortes de terapia combinada 1aC1, 1aC2 e 1aC3 são dados 1,2 ou 4 mg/kg de cabiralizumabe e 3 mg/Kg de nivolumabe uma vez a cada 14 dias (q2w). Os pacientes nas coortes 1aM1 e 1aC1 são tratados para um total de dois ciclos de 14 dias dentro de um período de 28 dias, seguido pelas outras coortes. Uma coorte de cabiralizumabe de 3 mg/kg e de nivolumabe de 3 mg/Kg também podem ser incluídos. Na Fase 1a, pacientes podem ser incluídos em ambas as coortes de monoterapia e terapia combinada se eles têm um tumor sólido confirmado histologicamente ou citologicamente que é localmente recorrente ou metastático e progrediu após tratamento padrão ou não é apropriado para o tratamento padrão. São excluídos pacientes com qualquer exposição anterior a qualquer droga direcionada para a via de PD-1.

[0227] Na Fase 1b, oito coortes de pacientes são tratadas da seguinte forma.

[0228] Coorte 1b1: NSCLC (não exposto com terapia de anti-PD-1, segunda ou terceira linha).

[0229] Esta coorte pode incluir pacientes com NSCLC escamoso ou não escamoso histologicamente ou citologicamente documentado que apresentam doença em Estádio IIIB ou IV (de acordo com a versão 7 da associação internacional *Study of Lung Cancer Staging manual in Thoracic oncology*) e com recorrência ou doença progressiva após terapia multimodal (radioterapia, ressecção cirúrgica ou quimiorradioterapia definitiva) para doença

localmente avançadas ou metastáticas. Isto pode incluir pacientes com progressão ou recorrência durante/após um regime de dupla quimioterapia baseada em platina para doença metastática ou avançada. São excluídos pacientes com qualquer exposição anterior a qualquer droga direcionada para a via de PD-1.

[0230] Coorte 1b2: NSCLC (pacientes refratários a drogas que tem anti-PD-1 como alvo).

[0231] Esta coorte pode incluir pacientes com NSCLC histologicamente ou citologicamente documentados que se apresentam com Estádio IIIB localmente avançado ou doença em Estádio IV, e pacientes com evidência radiológica de progressão da doença durante o tratamento com uma droga direcionada para a via de PD-1 que não produz uma resposta clínica (ou seja, nem CR nem PR) e com doença progressiva como a melhor resposta. No contexto desta coorte, pacientes refratários são pacientes que não têm tido resposta clínica após receber pelo menos 2 doses de qualquer droga direcionada a PD-1. Pacientes que são intolerantes a qualquer droga direcionada à via de PD-1 são excluídos, onde a intolerância é definida como qualquer tratamento relacionados a eventos adversos de Grau 4 ou qualquer tratamento relacionado a eventos adversos de Grau 2 ou 3 que é inaceitável para o paciente e persiste apesar de contramedidas padrão.

[0232] Coorte 1b3: Melanoma (não exposto a terapia com anti-PD-1).

[0233] Esta coorte pode incluir pacientes com melanoma de Estádio III ou IV histologicamente ou citologicamente documentado de acordo com o sistema de estadiamento da *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) que são tanto refratários, intolerantes como que recusaram terapia padrão para tratamento de melanoma metastático. Os pacientes incluídos podem demonstrar evidências objetivas de progressão da doença apesar de

tratamento com um inibidor de BRAF ou podem ser BRAF tipo selvagem. São excluídos os pacientes com qualquer exposição anterior a qualquer droga que tem como alvo a via de PD-1, que são BRAF mutante ou cujo estado mutacional de BRAF não é conhecido ou não pode ser determinado.

[0234] Coorte 1b4: Melanoma (refratário ou recidivo na droga direcionada a PD-1).

[0235] Pacientes nesta coorte podem ter melanoma em Estádio III ou IV irresssecável histologicamente ou citologicamente documentado de acordo com o sistema de estadiamento AJCC. Pacientes incluídos podem apresentar evidência radiológica de progressão da doença durante tratamento com um inibidor de ponto de controle ou uma droga direcionada a PD-1 que não produzir um benefício clínico, ou podem apresentar, enquanto recebendo tratamento com uma droga direcionada a PD-1, doença progressiva como a melhor resposta ou progressão da doença após um benefício clínico inicial. No contexto desta coorte, pacientes refratários são pacientes que não têm tido resposta clínica após receber pelo menos 2 doses de qualquer droga direcionada a PD-1. Os pacientes incluídos podem demonstrar evidências objetivas de progressão da doença apesar de tratamento com um inibidor de BRAF ou podem ser BRAF tipo selvagem. Qualquer terapia anticâncer anterior incluindo dacarbazina, inibidor de BRAF (se positivo para mutação de BRAF V600) e/ou ipilimumabe e radioterapia paliativa são completadas pelo menos 3 semanas antes para administração da droga do estudo e o tratamento com uma droga direcionada à PD-1 é descontinuado pelo menos 6 semanas antes da primeira dose da droga do estudo. Os pacientes que são intolerantes a qualquer droga direcionada à via de PD-1, conforme definido acima são excluídos, já que são paciente que são BRAF mutantes ou cujo estado mutagênico de BRAF é desconhecido ou não pode ser determinado.

[0236] Coorte 1b5: Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça

e Pescoço (SCCHN) (segunda linha).

[0237] Os pacientes com SCCHN recorrente ou metastático histologicamente ou citologicamente documentado (cavidade oral, faringe, laringe), Estádio III ou IV e não tratável com terapia local com intenção curativa (cirurgia ou radioterapia com ou sem quimioterapia) podem ser incluídos nesta coorte. Os pacientes também podem ter progressão ou reincidência dentro de 6 meses da última dose de terapia de platina na configuração adjuvante (isto é, com radiação após cirurgia), primária (isto é, com radiação), recorrente ou metastática. A progressão clínica após terapia de platina é um evento permissível para entrada e é definida como progressão de uma lesão com pelo menos 10 mm de tamanho que é acessível para medição por paquímetro (por exemplo, lesão de pele superficial de acordo com RECIST v1.1) ou uma lesão que foi visualizada e registrada fotograficamente com medições e mostrou ter progredido. São excluídos pacientes com exposição prévia a uma droga anti-PD-1.

[0238] Coorte 1b6: Câncer pancreático (segunda linha).

[0239] Os pacientes incluídos podem ter adenocarcinoma de pâncreas localizado ou metastático histologicamente ou citologicamente documentado, que falharam (ou não são indicados) para terapia padrão. Os pacientes também podem ter recebido antes da cirurgia, radioterapia para a gestão do adenocarcinoma do pâncreas localmente avançado ou metastático com a condição de que a progressão da doença tenha sido documentada. Todas as toxicidades devem ser resolvidas e a última fração de tratamento com radiação foi concluído pelo menos 4 semanas antes da primeira administração da droga do estudo. São excluídos pacientes com exposição prévia a uma droga anti-PD-1.

[0240] Coorte 1b7: Câncer colorretal (terceira linha).

[0241] Pacientes incluídos podem ter adenocarcinoma de cólon ou

reto histologicamente ou citologicamente documentado, e podem ter câncer colorretal metastático com progressão de doença documentada após a última administração de terapias padrão ou intolerância a terapias padrão (e terapias aprovadas tiveram de incluir uma fluoropirimidina, oxaliplatina, irinotecano, bevacizumabe e, se KRAS tipo selvagem, cetuximabe ou panitumumabe). São excluídos pacientes com exposição prévia a uma droga anti-PD-1.

[0242] Coorte 1b8: Glioma maligno (primeira reincidência).

[0243] Pacientes nesta coorte podem ter glioma maligno de Grau IV conforme definido pela Organização Mundial da Saúde (OMS), avançado histologicamente ou citologicamente documentado (glioblastoma ou gliosarcoma) e podem ter tido tratamento anterior com cirurgia, radioterapia e temozolomida. Os pacientes podem ter uma primeira reincidência documentada por biópsia diagnóstica ou MRI de contraste melhorado realizada dentro de 21 dias da primeira administração da droga do estudo pela Avaliação de Resposta em critérios de Neuro-oncologia (RANO). Os pacientes são excluídos se tiverem recebido tratamento anterior com bevacizumabe ou outro agente direcionado ao VEGF ou receptor de VEGF, mais que 1 reincidência de glioblastoma ou gliosarcoma, ou exposição anterior a qualquer droga direcionada à PD-1.

[0244] Os pacientes em monoterapia são administrados com cabiralizumabe como uma infusão IV de 30 minutos. Os pacientes em terapia combinada recebem a infusão de nivolumabe primeiro em uma dose de 3 mg/kg como uma infusão IV de 30 minutos, no Dia 1 de cada ciclo de tratamento de 14 dias. Eles recebem cabiralizumabe após a infusão de nivolumabe no Dia 1 de cada ciclo de tratamento de 14 dias, com um repouso de 30 minutos entre as duas infusões.

[0245] Uma biópsia no local do tumor é coletada antes do Dia 1 do primeiro ciclo do estudo e novamente no Dia 29. Os pacientes também são

avaliados quanto ao pós-estudo de sobrevida total, sobrevida livre de progressão e duração de resposta para os pacientes com respostas confirmadas, com base nos critérios RECIST v1.1., CT/MRI (tórax, abdome, pelve e cérebro) são realizadas antes do Dia 1, durante tratamento e após o estudo, e são tomadas as medições de massa tumoral. O principal parâmetro de resposta é a taxa de resposta objetiva, que é o número de pacientes com resposta completa ou parcial dividido pelo número total de pacientes tratados com doença mensurável em nível basal. A resposta tumoral é avaliada com o uso de RECIST v1.1, Apêndice F.

#### **EXEMPLO 4**

#### **PROTOCOLO DE FASE 1A E 1B DO ENSAIO CLÍNICO COMPLETO - ENSAIO CLÍNICO DE MONOTERAPIA E TERAPIA COMBINADA COM UM ANTICORPO ANTI-CSF1 R (CABIRALIZUMABE) E UM ANTICORPO ANTI-PD-1 (NIVOLUMABE)**

[0246] Este exemplo resume um protocolo clínico de Fase 1 para uma combinação de cabiralizumabe e nivolumabe, e foi anteriormente divulgado como Exemplo 8 na Publicação Internacional WO2016/069727.

#### **1. INTRODUÇÃO E RACIONAL DO ESTUDO**

#### **Receptor Do Fator 1 Estimulador De Colônias E Macrófagos Associados Ao Tumor**

[0247] Os macrófagos são células derivadas da mielóide que realizam uma variedade de funções no organismo humano. Eles podem colonizar tecidos (e tumores) através de dois mecanismos distintos: Semeadura hematogênica de monócitos circulantes ou autorrenovação local sob a forma de macrófagos residentes em tecidos (Lavin, 2013). Estudos recentes têm mostrado que os macrófagos exercem seus efeitos fisiológicos dentro, e desempenham funções exclusivas para, os tecidos em que eles estão ativos (Lavin, 2014). A regulação dos macrófagos é complexa, visto que essas células secretam ativamente e responder a várias citocinas e gradientes de quimiocina dentro de

seu ambiente local.

[0248] Os macrófagos associados ao tumor (TAMs) estão entre os tipos de células imunes mais abundantes no microambiente tumoral. Evidências substanciais sugerem que TAMs estão polarizados para um fenótipo anti-inflamatório (M2) que inibe a resposta imune antitumoral (Nov, 2014) tanto através de contato célula-célula como fatores solúveis como citocinas imunossupressoras. Consistente com isso, níveis aumentados de TAMs estão associados com um mau prognóstico na maioria dos cânceres (Komohara, 2014).

[0249] Após tratamento com agentes anti-CSFIR, os macrófagos que não foram depletados podem ser repolarizados de um estado imunossupressivo M2 para um estado antitumoral M1 que apoiaria respostas de células T. Esta conversão, associada com modalidades de tratamento concomitante, como tratamento com anti-PD-1, poderiam ter um efeito aumentado na redução do crescimento tumoral (Ruffell, 2015).

[0250] As taxas de resposta em estudos com PD-L1 em andamento mostraram se correlacionar com a concentração de PD-1/PD-L1 no estroma tumoral (Tumeh, 2014). De nota, existe também uma quantidade de macrófagos significativa no estroma tumoral, visto que o recrutamento de monócitos no estroma tumoral leva ao seu desenvolvimento em macrófagos M2 supressivos. Foi demonstrado que a associação de monócitos e macrófagos com PD-L1 mostrou suprimir a imunidade de células T específicas de tumor e se correlacionar com pouca sobrevida em pacientes. Previsivelmente, demonstrou-se que o bloqueio de células PD-L1 positivas associadas a monócitos *in vivo* aprimora a imunidade de células T específicas de tumor. Estudos *in vitro* também mostram que monócitos ativados que expressam PD- L1 demonstram prevenção considerável de proliferação de células T específicas de tumor, produção de citocinas e potencial citotóxico (Kuang, 2009).

[0251] A sinalização do receptor do fator 1 estimulador de colônias

(CSF1R) desempenha um papel fundamental na diferenciação, manutenção e função de macrófagos e de um subconjunto de outras células de linhagem mieloide que inclui monócitos e osteoclastos (Hamilton, 2013). Os dois ligantes conhecidos para CSF1R são CSF1 e IL34. Ambos os agonistas se ligam às regiões de sobreposição de CSF1R com afinidade similar (Masteller, 2014), embora tenham pouca homologia de aminoácido em comum. Camundongos desprovidos de CSF1R têm deficiências em macrófagos, ressaltando o papel essencial da via de CSF1R na biologia deste tipo de célula (Dai, 2002). Espera-se que tratamentos farmacológicos que bloqueiam CSF1R em configurações de câncer reduzam ou reprogramam TAMs e reduzem a imunossupressão. No total, isso poderia produzir um microambiente tumoral que é mais propício para terapias anticâncer de base imunológica.

[0252] O cabiralizumabe é um anticorpo monoclonal imunoglobulina G4 humanizado recombinante (IgG<sub>4</sub>) que se liga ao CSF1R humano. A interação de cabiralizumabe e CSF1R antagoniza a ligação de ambos CSF1 e IL34 a CSF1R, prevenindo assim a ativação de receptor. O cabiralizumabe inibe tanto a fosforilação de CSF1R induzida por IL34 como CSF1 em uma linhagem celular elaborada geneticamente para superexpressar CSF1R (CHO-CSF1R), demonstrando experimentalmente que cabiralizumabe bloqueia a ativação de vias de sinalização de CSF1R induzidas por ligante. O cabiralizumabe também inibe a proliferação induzida por CSF1 e IL34 e sobrevivência de monócitos do sangue periférico in vitro, demonstrando que cabiralizumabe inibe não somente a iniciação de vias de sinalização de CSF1 como IL34, mas também a subsequente resposta fisiológica de monócitos humanos primários para esses ligantes.

[0253] Juntos, esses e outros dados emergentes sugerem que o bloqueio de CSF1R com tratamento com cabiralizumabe poderia aliviar o ambiente tumoral imunossupressor que é gerado por TAMs e poderia melhorar a eficácia de terapias anticâncer de base imunológica.



PD-1

[0254] A proteína Morte celular programada-1 (PD-1; CD279) é um receptor de sinalização de superfície celular que fornece sinais inibitórios que regulam o equilíbrio entre a ativação de células T e a tolerância através da interação com os seus ligantes, PD-L1 (CD274; B7-H1) e PD-L2 (B7-DC/CD273). Ela é uma proteína transmembrana de 55 kD tipo I que é membro da família CD28 de receptores coestimuladores de células T, que também inclui coestimulador induzível (ICOS), antígeno-4 dos linfócitos T citotóxicos (CTLA-4), e atenuador de linfócitos B e T (BTLA) (Freeman, 2000). PD-1 contém um motivo imunorreceptor inibitório da tirosina proximal da membrana intracelular (ITIM) e um motivo de comutação imunorreceptor distal de membrana baseado em tirosina (ITSM). PD-1 é principalmente expressa em células T ativadas, células B e células mieloides (Nishimura, 2001a). Seus ligantes, PD-L1 e PD-L2, demonstraram uma infrarregulação da ativação das células T após ligação a PD-1 tanto em sistemas murinos como em sistemas humanos (Carter, 2002; Latchman, 2001). PD-1 fornece um sinal negativo pelo recrutamento de SHP-2 para o resíduo de tirosina fosforilado no ITSM na sua região citoplasmática (Chemnitz, 2004; Sheppard, 2004).

[0255] As evidências de um papel regulador negativo de PD-1 vêm de estudos em camundongos deficientes em PD-1, que desenvolvem vários fenótipos autoimunes, incluindo cardiomiopatia dilatada e uma síndrome similar ao lúpus com artrite e nefrite (Nishimura, 1999; Nishimura, 2001b; Okazaki, 2003). A emergência destes fenótipos autoimunes é dependente dos antecedentes genéticos da linhagem do camundongo; Muitos destes fenótipos emergem em tempos diferentes e mostram penetrância variável. Além dos fenótipos de mutações nulas, descobriu-se que a inibição de PD-1 por bloqueio mediado por anticorpos em vários modelos murinos foi desempenha um papel no desenvolvimento de doenças autoimunes como encefalomielite, doença do

enxerto contra hospedeiro e diabetes tipo I (Ansari, 2003; Blazar, 2003; Salama, 2003). Em conjunto, estes resultados sugerem que o bloqueio de PD-1 tem o potencial para ativar respostas anti-auto células T, mas estas respostas são variáveis e dependentes de vários fatores genéticos do hospedeiro. Dessa forma, a deficiência ou inibição de PD-1 não é acompanhada por uma perda universal de tolerância aos autoantígenos.

[0256] O agente que tem PD-1 como alvo, o nivolumabe, foi clinicamente testado em vários tipos de tumores incluindo NSCLC, melanoma e carcinoma de células renais (RCC) como um agente único ou em combinação com outros tratamentos. Alguns dos dados de eficácia a partir da Brochura do Investigador (BI) do nivolumabe são mostrados na Tabela 1, abaixo. O nivolumabe como agente único tem notável eficácia durável em uma subpopulação de pacientes. O efeito melhorado das combinações de nivolumabe sugere o potencial para oportunidades com benefícios adicionais para pacientes como um regime de combinação com outros agentes não testados.

[0257] O nivolumabe é atualmente aprovado pela FDA para melanoma irresssecável ou metastático e progressão da doença seguida por ipilimumabe e, se a mutação BRAF V600 for positiva, um inibidor de BRAF. Ele também é aprovado para câncer de pulmão metastático de células pequenas não escamosas (NSCLC) com progressão durante ou após a quimioterapia baseada em platina.

**TABELA 1**

**RESUMO DOS DADOS DE EFICÁCIA CLÍNICA DE NIVOLUMABE EM MELANOMA, NSCLC E**

**RCC**

Número do estudo	Drogas do estudo	Tipo de Tumor	Resposta		
			ORR	DOR	OS
MDX1106-03	Nivolumabe	NSCLC	17%	17 meses	24% @ 24m
CA209012	Nivolumabe	NSCLC	30%	NR	-
	Nivolumabe +	NSCLC	13-	NR	-

Número do estudo	Drogas do estudo	Tipo de Tumor	Resposta		
			ORR	DOR	OS
	ipilimumabe		20%		
	Nivolumabe + quimioterapia <sup>+</sup>	NSCLC	33-47%	25,4 - 45 semanas	-
	Nivolumabe + erlotinibe	NSCLC	19%	NR	-
CA209017 <sup>a</sup>	Nivolumabe	NSCLC	-	-	9,2 meses
CA209063 <sup>b</sup>	Nivolumabe	NSCLC	14,5%	NR	-
MDX1106-03	Nivolumabe	Melanoma	31%	> 6 meses	48% @ 24m
CA209004	Nivolumabe + ipilimumabe <sup>+</sup>	Melanoma	42-43%	-	85% @ 12m
CA209037 <sup>c</sup>	Nivolumabe	Melanoma	31,7%	-	-
CA209038	Nivolumabe	Melanoma	18-32%	-	-
MDX1106-03	Nivolumabe	RCC	21%	> 6 meses	48% @ 24m
CA209010	Nivolumabe	RCC	20-22%	-	18,2 meses
CA209016	Nivolumabe + ipilimumabe <sup>+</sup>	RCC	43-48%	-	-
	Nivolumabe + sunitinibe	RCC	52%	-	-
	Nivolumabe + pazopanibe <sup>+</sup>	RCC	45%	-	-

<sup>a</sup> bula do Opdivo, 2015

<sup>b</sup> Rizvi, 2015

<sup>c</sup> Weber, 2015

### **1.1 JUSTIFICATIVA PARA TERAPIA COMBINADA DE CABIRALIZUMABE E**

#### **NIVOLUMABE**

[0258] O cabiralizumabe é um anticorpo monoclonal humanizado direcionado contra CSF1R. Direcionar a via de CSF1R com anticorpos ou inibidores de moléculas pequenas demonstrou-se ser eficaz em modelos de tumor de camundongos singênicos. Em um modelo de adenocarcinoma de cólon MC38 em camundongos, um anticorpo direcionado para CSF1R resultou em uma redução significativa de TAMs, o que foi acompanhado por uma mudança positiva da razão CD8<sup>+</sup> para CD4<sup>+</sup> para células TCD8<sup>+</sup> citotóxicas. Em um estudo clínico recente, RG7155 (um anticorpo direcionado contra

CSF1R) foi testado em pacientes com tumores sólidos e demonstrou reduzir substancialmente os macrófagos CSF1R<sup>+</sup>CD163<sup>+</sup> em tumores (Ries, 2014). Esta redução nos macrófagos também foi associada a uma diminuição das células T reguladoras FOXP3<sup>+</sup>. Estes dados sugerem que outras células imunes efectoras foram indiretamente influenciadas pelo bloqueio de CSF1R. Em um modelo de glioblastoma multiforme proneural de camundongo (GBM), a inibição de moléculas pequenas de CSF1R aumentou significativamente a sobrevida e regrediu tumores estabelecidos (Pyonteck, 2013). Neste modelo, os TAMs não foram depletados, mas em vez disso, convertidos para um fenótipo mais pró-inflamatório na presença de inibição de CSF1R.

[0259] Em um modelo de adenocarcinoma ductal pancreático ortotópico (PDAC), o bloqueio da via de CSF1R com uma molécula pequena ou um anticorpo anti-CSF1 diminuiu seletivamente TAMs imunossupressores, reduzindo subsequentemente a imunossupressão. Esta diminuição de TAMs imunossupressores permitiu que TAMs pró-inflamatórios restantes suportassem a apresentação do antígeno e reforçassem a resposta das células T antitumorais (Zhu, 2014). Isto, por sua vez, levou a uma resposta aumentada do interferon que suprarregulou os inibidores de ponto de controle de células T, incluindo PD-L1, em células tumorais. Esta contrarregulação serviu para limitar a resposta das células T antitumorais através do engajamento do inibidor de PD-1 de células T. De modo importante, o tratamento anti-PD-1 foi capaz de superar a inibição mediada por PD-L1. Alvejar PD-1 como agente único mostrou eficácia limitada na contenção do crescimento do tumor de PDAC, mas a combinação do bloqueio PD-1 com a inibição de CSF1R provocou uma regressão tumoral potente mesmo em tumores grandes e estabelecidos.

[0260] Juntos, estes dados sugerem que a reprogramação do compartimento TAM em tumores através de bloqueio de CSF1R mediado por cabiralizumabe poderia reduzir TAMs imunossupressores no microambiente

tumoral e melhorar a eficácia de imunoterapias baseadas no ponto de controle, como nivolumabe.

**1.2 JUSTIFICATIVA PARA TERAPIA COMBINADA DE  
CABIRALIZUMABE/NIVOLUMABE EM TIPOS SELECIONADOS DE TUMORES**

[0261] Os TAMs podem potencialmente suprimir as respostas imunitárias antitumorais. CSF1R é um receptor de superfície celular que é expresso em TAMs e regula a sua sobrevivência e função. Demonstrou-se que os anticorpos bloqueadores de CSF1R reduzem TAMs tanto nos tumores de murinos como nos de humanos (Ries, 2014). TAM estão presentes em muitos cânceres humanos sugerindo que anticorpos bloqueadores de CSF1R, como cabiralizumabe, podem ser usados para tratar múltiplos tipos de tumores. Além disso, mostrou-se que os TAMs se correlacionam com prognóstico fraco em uma série de cânceres, incluindo pulmão, pâncreas, cabeça e pescoço, e melanoma, entre outros (Komohara, 2014). Além disso, a análise do *The Cancer Genome Atlas* mostra alta correlação de CSF1R com coexpressão de PD-1/PD-L1 e assinaturas de células T nos cânceres de cabeça e pescoço, pulmão e melanoma, bem como outros. Em modelos pré-clínicos, a inibição de CSF1R também demonstrou alterar a polarização dos macrófagos e bloquear a progressão do glioma (Pyonteck, 2013). O bloqueio de CSF1R também reduz TAMs e produz sinergia com o bloqueio de controle de PD-1 e CTLA4 em modelos de câncer do pâncreas (Zhu, 2014). Demonstrou-se também que as células tumorais colorretais expressam níveis relativamente mais baixos de PD-L1 em comparação com melanoma ou cânceres de pulmão e que os níveis de PD-L1 observados estão presentes em células mieloides infiltrantes (Llosa, 2015).

[0262] O nivolumabe está atualmente sendo testado em vários tipos de tumores, incluindo todos os tipos de tumor propostos para a porção da Fase 1b deste estudo. À medida que os dados de nivolumabe amadurecem,

eles ajudarão a informar a expansão da Fase 1b deste estudo em tipos de tumor selecionados.

[0263] Além dos estudos em andamento, o nivolumabe foi aprovado para uso em melanoma e NSCLC escamoso. A aprovação do melanoma foi baseada nos resultados do estudo *CheckMate 037*. Neste estudo, a eficácia e a segurança do nivolumabe foram comparadas com a escolha do Investigador de quimioterapia (ICC) como um tratamento de segunda linha ou linha posterior em pacientes com melanoma avançado. Neste estudo, 272 pacientes foram escolhidos aleatoriamente para nivolumabe e 133 para ICC. As respostas objetivas confirmadas foram relatadas em 32% dos primeiros 120 pacientes no grupo do nivolumabe versus 11% dos pacientes no grupo ICC. Os eventos adversos de Grau 3-4 atribuídos ao nivolumabe incluíram aumento da lipase, aumento da ALT, anemia e fadiga (1% cada); para ICC, estes incluíram neutropenia (14%), trombocitopenia (6%) e anemia (5%). Houve também SAEs relacionados à droga de Grau 3-4 em 5% dos pacientes tratados com nivolumabe e 9% dos pacientes do grupo ICC. Não ocorreram mortes relacionadas com o tratamento (Weber, 2015).

[0264] A aprovação em NSCLC para o nivolumabe foi baseada nos resultados dos estudos *CheckMate 017* e *CheckMate 063*. O estudo *CheckMate 017* cadastrou pacientes com NSCLC escamoso metastático que tinham experimentado a progressão da doença durante ou após um regime anterior de quimioterapia dupla baseada em platina. OS com tratamento com nivolumabe foi de 9,2 meses, *versus* 6,0 meses com docetaxel (Bula do Opdivo, 2015). O estudo *CheckMate 063* avaliou a atividade do nivolumabe em pacientes com NSCLC avançado, refratário e escamoso. O estudo cadastrou e tratou 117 pacientes. Destes, 14,5% dos pacientes tiveram uma resposta objetiva avaliada por um comitê de revisão de radiologia independente e 26% apresentaram doença estável. O tempo médio de resposta foi de 3,3 meses e a

mediana da duração da resposta não foi obtida. Das 17 respostas, 77% estavam em andamento no momento da análise. Dos 117 pacientes, 17% relataram AEs de graus 3-4 relacionados ao tratamento, incluindo: fadiga (4%), pneumonite (3%) e diarreia (3%). Houve duas mortes associadas ao tratamento causadas por pneumonite e acidente vascular cerebral isquêmico que ocorreram em pacientes com múltiplas comorbidades na configuração de doença progressiva (Rizvi, 2015).

[0265] Os dados relatados acima suportam a investigação de cabiralizumabe em combinação com nivolumabe em melanoma, NSCLC, câncer de cabeça e pescoço, pancreático, colorretal e glioma.

### **1.3 RACIONAL PARA DOSE INICIAL PARA MONOTERAPIA COM CABIRALIZUMABE E ESCALONAMENTO DE DOSE COMBINADA**

[0266] O Patrocinador já iniciou um primeiro estudo clínico de Fase 1 humano desenhado em 3 partes para avaliar a segurança, PK e biomarcadores do agente único cabiralizumabe em voluntários saudáveis e pacientes com artrite reumatoide (RA) (Estudo FPA008-001). Nas partes 1 e 2 deste estudo, cabiralizumabe foi testado em voluntários saudáveis em doses de 0,2, 1, 3, e 10 mg/kg de peso corporal. No grupo de voluntários saudáveis, a 1 mg/kg, 7 indivíduos receberam uma dose única e 5 indivíduos receberam 2 doses; a 3 mg/kg, 10 indivíduos receberam uma dose única e 2 indivíduos receberam 2 doses; a 10 mg/kg, 6 indivíduos receberam uma dose única de cabiralizumabe. Coortes de doses múltiplas receberam doses com 14 dias de intervalo e todos os indivíduos foram seguidos para toxicidades limitantes da dose (DLTs) através de uma janela de 28 dias.

[0267] A partir de 23 de setembro de 2014, 48 indivíduos completaram as Partes 1 e 2 do estudo. Não foram relatadas DLTs nas Partes 1 ou 2. Todos os eventos adversos (AEs) foram de Grau 1 ou 2 e auto-limitada com o mais comum relacionado a toxicidades ao tratamento com

cabiralizumabe sendo prurido, edema palpebral, juntamente com inchaço facial, fadiga e dor de cabeça. As elevações temporárias de enzimas séricas como a creatina quinase (CK), Lactato desidrogenase (LDH), alanina aminotransferase (ALT) e aspartato transaminase (AST) foram observadas.

[0268] No andamento do braço da Parte 3 do estudo de Fase 1, os pacientes de RA que não responderam a drogas antirreumáticas modificadores de doença (DMARDs) estão participando em um estudo aberto com diferentes níveis de dose de cabiralizumabe a 1, 3, e 6 mg/kg de peso corporal. É requisitado a estes pacientes a estar em uma dose semanal estável de metotrexato antes e durante o estudo e receberão 2 doses de cabiralizumabe, com 14 dias de intervalo. Além de outras análises, os pacientes estão sendo acompanhados quanto à segurança, farmacocinética (PK) e farmacodinâmica (PD) após o regime de 2 doses.

[0269] Em resumo, 36 voluntários saudáveis e 6 pacientes com RA receberam cabiralizumabe até a data, não foram relatadas DLTs nas Partes 1 ou 2 e não foram relatadas toxicidades significativas relacionadas ao tratamento de pacientes com RA nos grupos 1 mg/kg ou 3 mg/kg níveis de dose. O perfil de segurança do nivolumabe está bem estabelecido e apoiado pelas recentes autorizações de comercialização dos EUA para o tratamento de melanoma e NSCLC escamoso. O número de indivíduos tratados, os níveis de dose avaliados e o perfil total atual de AE de cabiralizumabe e nivolumabe apoiam o início simultâneo da monoterapia com 2 mg/kg de cabiralizumabe e coortes de terapia combinada de 1 mg/kg de cabiralizumabe com 3 mg/kg de nivolumabe neste estudo.

[0270] A porção de Fase 1a deste estudo consistirá em um escalonamento de dose em monoterapia de duas etapas de cabiralizumabe a 2 mg/kg seguido por 4 mg/kg de cabiralizumabe. Haverá também um escalonamento de dose em três etapas de uma dose fixa de 3 mg/kg de



nivolumabe em combinação com 1 mg/kg cabiralizumabe, seguida por 2 mg/kg de cabiralizumabe, em seguida 4 mg/kg de cabiralizumabe.

[0271] A coorte de monoterapia com 4 mg/kg de cabiralizumabe será aberta após o período de 28 dias de DLT na coorte de monoterapia com 2 mg/kg de cabiralizumabe. A coorte de combinação de 2 mg/kg de cabiralizumabe/nivolumabe só começará depois do período DLT na coorte de combinação de 1 mg/kg cabiralizumabe/nivolumabe e na coorte de monoterapia com 2 mg/kg de cabiralizumabe. A coorte de combinação de 4 mg/kg de cabiralizumabe/nivolumabe será aberta após o período DLT nas coortes de combinação de 1 mg/kg e 2 mg/kg de cabiralizumabe/nivolumabe e nas coortes de monoterapia com 2 mg/kg e 4 mg/kg de cabiralizumabe. A esquemática de escalonamento de dose é mostrada na Figura 2.

[0272] Todos os pacientes estarão em uma programação de dosagem contínua a cada 14 dias e seguidos até a progressão da doença, toxicidade inaceitável ou retirada de consentimento.

#### **1.4 RACIONAL PARA ADMINISTRAÇÃO DE INFUSÃO DE 30 MINUTOS PARA CADA**

##### **DROGA DO ESTUDO**

[0273] Os tempos de infusão longos, especialmente quando múltiplos agentes são administrados sequencialmente a um indivíduo, colocam uma carga sobre os pacientes e centros de tratamento.

[0274] O cabiralizumabe, um inibidor de CSF1R, foi administrado durante mais de 30 minutos em estudos em voluntários saudáveis e também para pacientes com RA.

[0275] O nivolumabe foi administrado com segurança ao longo de 60 minutos em doses que variam até 10 mg/kg durante as extensas durações de tratamento. No Estudo CA209010, (Um estudo de Fase 2, aleatório, duplo-cego, de variação de dose de nivolumabe em indivíduos com RCC de células claras avançadas/metastáticas), uma associação de dose para reações no local de

infusão e reações de hipersensibilidade foi observada (1,7% a 0,3 mg/kg, 3,7% a 2 mg/kg e 18,5% a 10 mg/kg). Todos os eventos foram de Grau 1 ou 2 e gerenciáveis. Não se espera que uma duração de infusão de 30 minutos para 3 mg/kg de nivolumabe (30% da dose fornecida a 10 mg/kg) apresente problemas de segurança mais graves em comparação com a experiência anterior de 10 mg/kg de nivolumabe infundido durante 60 minutos.

[0276] No geral, as reações de infusão, incluindo reações de hipersensibilidade de alto grau, têm sido pouco frequentes nos estudos clínicos com nivolumabe e cabiralizumabe. Além disso, uma pausa de 30 minutos após a infusão de nivolumabe nas coortes de combinação irá assegurar tempo para a monitoração de segurança adequada antes do início da infusão de cabiralizumabe. Em geral, uma variação no perfil de segurança não é antecipada com uma infusão de 30 minutos de nivolumabe ou cabiralizumabe sozinho ou em combinação.

## **1.5 PROPÓSITOS DE PESQUISA**

[0277] O propósito do braço de Fase 1a deste ensaio é avaliar a segurança e tolerabilidade após administração de monoterapia de cabiralizumabe bem como em combinação com nivolumabe em pacientes com cânceres avançados e para identificar a dose recomendada (RD) para o braço de combinação de cabiralizumabe para a Fase 1b deste estudo.

[0278] O propósito do braço da Fase 1b deste ensaio é caracterizar adicionalmente o perfil de segurança de cabiralizumabe em combinação com nivolumabe e avaliar o benefício clínico na RD da terapia combinada cabiralizumabe/nivolumabe em pacientes com cânceres selecionados avançados.

## **1.6 OBJETIVOS**

### **1.6.1 OBJETIVOS DA FASE 1A**

#### **1.6.1.1 PRIMÁRIO**

[0279] Avaliar a segurança e a tolerabilidade de cabiralizumabe

como monoterapia.

[0280] Avaliar a segurança e a tolerabilidade de cabiralizumabe em combinação com nivolumabe.

[0281] Determinar a dose recomendada (RD) de cabiralizumabe em combinação com uma dose fixa de nivolumabe.

#### **1.6.1.2 SECUNDÁRIO**

[0282] Caracterizar o perfil PK de cabiralizumabe.

[0283] Caracterizar o pico PK e o perfil de concentração mínimo de nivolumabe quando administrado em combinação com cabiralizumabe.

[0284] Caracterizar o perfil PD de cabiralizumabe e nivolumabe.

[0285] Caracterizar a imunogenicidade de cabiralizumabe e nivolumabe.

[0286] Avaliar a associação de medidas de biomarcadores selecionados e medidas de eficácia clínica com o uso de pré-tratamento e biópsias de tumor no tratamento.

#### **1.6.1.3 EXPLORATÓRIO**

[0287] Caracterizar adicionalmente o perfil PD de cabiralizumabe e nivolumabe.

### **1.6.2 OBJETIVOS DA FASE 1B**

#### **1.6.2.1 PRIMÁRIO**

[0288] Avaliar o benefício clínico de cabiralizumabe em combinação com nivolumabe em pacientes com cânceres avançados selecionados através da análise de taxa de resposta objetiva (ORR).

[0289] Avaliar a segurança e a tolerabilidade de cabiralizumabe em combinação com nivolumabe em pacientes com cânceres avançados selecionados tratados na RD.

#### **1.6.2.2 SECUNDÁRIO**

[0290] Avaliar o benefício clínico de cabiralizumabe em

combinação com nivolumabe em pacientes com cânceres avançados selecionados através da análise de sobrevida total (OS), duração de resposta (DOR) e sobrevida livre de progressão (PFS).

[0291] Caracterizar o perfil PK de cabiralizumabe.

[0292] Caracterizar o pico PK e o perfil de concentração mínimo de nivolumabe quando administrado em combinação com cabiralizumabe.

[0293] Caracterizar o perfil PD de cabiralizumabe e nivolumabe.

[0294] Caracterizar a imunogenicidade de cabiralizumabe e nivolumabe.

[0295] Avaliar a associação de medidas de biomarcadores selecionados e medidas de eficácia clínica com o uso de pré-tratamento e biópsias de tumor no tratamento.

### **1.6.2.3 EXPLORATÓRIO**

[0296] Caracterizar adicionalmente o perfil PD de cabiralizumabe e nivolumabe.

## **1.7 ANTECEDENTES DO DESENVOLVIMENTO DE PRODUTO**

### **1.7.1 MECANISMO DE AÇÃO**

#### **1.7.1.1 CABIRALIZUMABE**

[0297] O cabiralizumabe é um anticorpo IgG<sub>4</sub> monoclonal humanizado recombinante que se liga ao CSF1R humano. A ligação de cabiralizumabe a CSF1R antagoniza os seus ligantes naturais, CSF1 e IL34, prevenindo assim a ativação de CSF1R. O cabiralizumabe contém uma única substituição de aminoácidos na região de dobradiça para prevenir a troca hemidímero. O cabiralizumabe inibe tanto a fosforilação de CSF1R induzida por IL34 como CSF1 em uma linhagem celular elaborada geneticamente para superexpressar CSF1R (CHO-CSF1R), demonstrando que o cabiralizumabe bloqueia a ativação de vias de sinalização de CSF1R induzidas por ligante. O cabiralizumabe também inibe a proliferação induzida por CSF1 e IL34 e

sobrevida de monócitos do sangue periférico in vitro, demonstrando que cabiralizumabe inibe não somente a iniciação de vias de sinalização de CSF1 como IL34, mas também a subsequente resposta fisiológica de monócitos humanos primários para esses ligantes.

[0298] O CSF1R é expresso em células da linhagem monócitos/macrófagos e a sinalização através de CSF1R através dos seus ligantes, CSF1 e IL34, apoia a diferenciação, manutenção e função de monócitos, macrófagos e osteoclastos. Os TAMs estão entre os tipos de células imunes mais abundantes no microambiente tumoral. Evidências substanciais sugerem que os TAMs são polarizados para um fenótipo anti-inflamatório e através de inibidores de superfície celular e fatores solúveis, como citocinas imunossupressoras, desempenham um papel importante na inibição de respostas imunes antitumorais (Nov, 2014). O CSF1 é um fator de sobrevivência importante para TAMs e o direcionamento de CSF1R através de cabiralizumabe deve reduzir a supressão imune mediada por TAM, resultando no reforço da resposta antitumoral à imunoterapia. Portanto, uma droga que inibe CSF1R deve limitar a influência imunossupressora de TAMs no microambiente tumoral e pode ser complementar e aumentar as terapias de câncer atuais.

[0299] Uma vez que cabiralizumabe não reage de forma cruzada com CSF1R de camundongo, desenvolveu-se um anticorpo substituto, cmCabiralizumabe, que se liga e bloqueia CSF1R de camundongo com potência similar observada para cabiralizumabe contra CSF1R humano. O cmCabiralizumabe contém regiões variáveis de rato e uma região Fc de IgG1 de camundongo. A ligação de cmHuABI a CSF1R camundongo foi demonstrada em um ensaio imunoabsorvente ligado à enzima (ELISA), e a atividade inibidora de cmCabiralizumabe foi demonstrada pela sua capacidade para inibir a proliferação induzida por CSF1 e induzida por IL34 de uma

linhagem celular dependente de CSF1/IL34 (mNFS60). O valor de  $EC_{50}$  para ligação de cmCabiralizumabe a CSF1R de camundongo é de 2,4 ng/mL, e os valores de  $IC_{50}$  para inibição de proliferação/sobrevivência de células mNFS60 induzidas por CSF1 e induzida por IL34 de camundongo são 32,9 e 9,1 ng/mL, respectivamente.

#### **1.7.1.2 NIVOLUMABE**

[0300] A imunoterapia do câncer baseia-se na premissa de que os tumores podem ser reconhecidos como estranhos em vez de como próprios (auto) e podem ser atacados de maneira eficaz por um sistema imune ativado. Acredita-se que uma resposta imune eficaz neste contexto se baseie na vigilância imune de antígenos tumorais expressos em células de câncer que, em última instância, resulta em uma resposta imune adaptativa e morte de células de câncer. Entretanto, a progressão do tumor pode depender da aquisição de características que permitam às células cancerosas evadirem a vigilância imunológica e escapar de respostas imunes inatas e adaptativas eficazes (Dunn, 2002; Jemal, 2011; Pardoll, 2003; Zitvogel, 2006). As imunoterapias atuais tentam quebrar a aparente tolerância do sistema imune para células de tumor e antígenos, quer por introdução de antígenos de câncer através da vacinação terapêutica ou através da modulação de pontos de controle reguladores do sistema imune.

[0301] A estimulação de células T é um processo complexo que envolve a integração de numerosos sinais coestimuladores positivos e negativos em adição ao reconhecimento de antígeno pelo receptor de células T (TCR) (Greenwald, 2004). Coletivamente, esses sinais governam o equilíbrio entre ativação de células T e tolerância. Demonstrou-se que a sinalização PD-1 inibe a suprarregulação mediada por CD28 de IL-2, IL-10, IL-13, interferon gama (IFN- $\gamma$ ) e Bcl-xL. A sinalização de PD-1 também foi observada por inibir a ativação de células T, e a expansão de células anteriormente ativadas.

Evidência de um papel regulador negativo de PD-1 vêm de estudos de camundongos deficientes em PD-1, que desenvolvem uma variedade de fenótipos auto-imunes (Sharpe, 2007). Estes resultados sugerem que o bloqueio de PD-1 tem o potencial para promover respostas anti-auto células T, mas estas respostas são variáveis e dependentes de vários fatores genéticos do hospedeiro. Dessa forma, a deficiência ou inibição de PD-1 não é acompanhada por uma perda universal de tolerância aos autoantígenos.

[0302] Em ensaios *in vitro*, o nivolumabe se liga a PD-1 com alta afinidade ( $EC_{50}$  de 0,39 a 2,62 nM), e inibe a ligação de PD-1 a seus ligantes, PD-L1 e PD-L2 ( $IC_{50} \square 1$  nM). O nivolumabe se liga especificamente a PD-1 e não a membros relacionados da família CD28, como CD28, ICOS, CTLA-4 e BTLA. O bloqueio da via de PD-1 por nivolumabe resulta em uma melhora reprodutível tanto da proliferação como da liberação de IFN- $\gamma$  em uma reação mista de linfócitos (MLR). Com o uso de um ensaio de reestímulo de citomegalovírus (CMV) com células mononucleares de sangue periférico humano (PBMCs), o efeito do nivolumabe na resposta de recuo antígeno-específica é indicativo da secreção aumentada de IFN- $\gamma$  de nivolumabe a partir de células T de memória específicas de CMV em uma dose dependente versus um controle compatível ao isotipo. O bloqueio *in vivo* de PD-1 por um análogo de nivolumabe de murino melhora a resposta imune antitumoral e resulta na rejeição tumoral em vários modelos de tumor de camundongo imunocompetentes (MC38, SA1/N, e PAN02) (Wolchok, 2009).

### **1.7.2 RESUMO PRÉ-CLÍNICO**

#### **1.7.2.1 CABIRALIZUMABE**

[0303] A capacidade do cmCabiralizumabe em inibir o crescimento de câncer *in vivo* foi estudada em um modelo de câncer de cólon MC38 em camundongos imunocompetentes. Estes camundongos foram selecionados para permitir o estabelecimento de uma interação imunotumoral intacta. O

tratamento com cmCabiralizumabe começou quando os tumores atingiram aproximadamente 100 mm<sup>3</sup>. Os camundongos foram tratados uma vez por semana por injeção intraperitoneal de cmCabiralizumabe a 30 mg/kg e o crescimento tumoral foi comparado com camundongos tratados somente com albumina. O cmCabiralizumabe reduziu significativamente o crescimento de tumores MC38 em comparação com camundongos tratados com controle. A análise de citometria de fluxo de camundongos de controle mostrou que o compartimento mieloide CD11b<sup>+</sup> em tumores MC38 foi dominado por macrófagos CD206<sup>+</sup>. O CD206 é um marcador de macrófagos M2 imunossupressores. Estes macrófagos imunossupressores M2 CD206<sup>+</sup> foram significativamente reduzidos após tratamento com cmCabiralizumabe. A redução dos macrófagos M2 foi acompanhada por um aumento nas células T CD8<sup>+</sup> citotóxicas em relação às células TCD4<sup>+</sup> totais ou células T reguladoras definidas como células CD4<sup>+</sup>CD25<sup>alto</sup>. Estes dados sugerem que a redução de macrófagos imunossupressores por cmCabiralizumabe resulta em uma mudança para uma maior resposta de células T citotóxicas no tumor.

[0304] O perfil PK de cabiralizumabe é complexo e caracterizado por depuração não linear que é provavelmente mediada por ligação a CSF1R em células. Como as células de monócitos e macrófagos são dependentes de CSF1R para viabilidade, estas células de suporte de direcionamento são reduzidas em número após tratamento com cabiralizumabe, resultando em uma diminuição da depuração mediada pelo alvo. À medida que a depuração mediada pelo alvo se torna saturada em doses elevadas ou repetidas, a depuração de cabiralizumabe é similar a outros anticorpos IgG humanos.

[0305] Três biomarcadores de PD correlacionam-se com a exposição a cabiralizumabe em estudos não clínicos: níveis séricos de CSF1, monócitos circulantes de sangue periférico CD16-positivo (monócitos CD16<sup>+</sup>) e marcadores no soro de reabsorção óssea (Trap5b e CTX). Os níveis séricos de



CSF1 aumentam rapidamente e os níveis de monócitos CD16<sup>+</sup> diminuem rapidamente de uma forma dependente da dose intimamente relacionada com a concentração plasmática de cabiralizumabe. A saturação da resposta de PD é obtida com uma dose baixa de cabiralizumabe (3 mg/kg semanalmente) em macacos cinomologos. A metade da resposta máxima (IC<sub>50</sub>) para redução de monócitos CD16<sup>+</sup> ocorre a uma concentração sérica de aproximadamente 3 µg/mL e a resposta máxima ocorre a aproximadamente 10 µg/mL. O nível de monócitos CD16-negativos (CD16<sup>-</sup>) não se altera com exposição ao cabiralizumabe.

[0306] Nos estudos de toxicologia in vivo em macacos cinomologos, cabiralizumabe foi geralmente bem tolerado. Os achados relacionados ao artigo de teste incluíram observações clínicas, alterações hematológicas e químicas e alterações histopatológicas. A maioria dessas observações foi considerada não adversa. A observação clínica mais proeminente foi o edema periorbital reversível, observado após exposição prolongada a cabiralizumabe. O aparecimento do edema não mostrou uma relação clara com os níveis de exposição, mas o edema foi resolvido após a depuração sistêmica da droga. O edema periorbital é um efeito secundário conhecido de drogas que afetam a via de CSF1 (Cassier, 2014; Ries, 2014). A principal alteração hematológica foi uma diminuição reversível dos monócitos CD16<sup>+</sup> circulantes, o que foi considerado efeito de PD. Os efeitos clínicos químicos relacionados com cabiralizumabe incluíram aumento reversível dos níveis séricos de ALT, AST, CK e LDH. Estas anomalias laboratoriais não foram associadas a nenhuma evidência histopatológica de lesão hepática, cardíaca ou tecidual. Além disso, troponina cardíaca, troponina esquelética (SkTnl), mioglobina e aldolase não mostraram nenhuma alteração confirmando a ausência de qualquer lesão hepática ou muscular. Os níveis séricos aumentados são atribuídos à diminuição da depuração das moléculas de ALT,

AST, CK e LDH a partir do soro devido a um número reduzido de células de Kupffer hepáticas (Radi, 2011). Consequentemente, as elevações de ALT, AST, CK e LDH são consideradas não tóxicas e um efeito PD indireto de exposição ao cabiralizumabe.

[0307] Um achado histopatológico notável foi a expansão reversível das fibras de colágeno submucoso por espaço livre e quantidades variáveis de uma matriz extracelular granular azul (ECM) em uma variedade de tecidos. Esta alteração não foi associada com células inflamatórias nem com qualquer sinal de degeneração ou outra alteração das fibras colágenas, fibroblastos ou células musculares lisas dentro da área de expansão. Uma observação similar foi também observada em camundongos *op/op* que não possuem CSF1 funcional. A redução dos macrófagos teciduais é a causa provável do acúmulo observado de ECM devido a uma depuração diminuída de glicosaminoglicanos, especialmente ácido hialurônico, que são proeminentes no tecido conjuntivo e são normalmente catabolizados por macrófagos (Radi, 2009). Esta alteração é também considerada um efeito PD indireto de cabiralizumabe.

[0308] A troponina cardíaca I estava abaixo do limite de quantificação (LOQ) em todas as amostras com exceção de um macaco fêmea no grupo de 150 mg/kg no Dia 28. Este animal tinha um achado microscópico correspondente no coração. Embora as elevações da troponina cardíaca I sejam altamente específicas para a lesão miocárdica, o nível detectado neste macaco (0,26 ng/mL) foi marginalmente acima do LOQ do ensaio (0,20 ng/mL) e muito inferior ao que seria esperado para um evento cardíaco adverso.

[0309] Determinou-se que o nível de efeito adverso não observável (NOAEL) para cabiralizumabe era de 100 mg/kg quando administrado por 13 doses semanais a macacos cinomologos, o que proporciona um fator de segurança de 32 vezes baseado no cálculo da área de

superfície corporal para a dose inicial de 1 mg/kg em seres humanos.

[0310] O nível de efeito biológico mínimo esperado (MABEL) foi avaliado para orientar as decisões de dose inicial em voluntários saudáveis no primeiro estudo em humanos. Os marcadores PD identificados como representativos de um efeito biológico foram alterações nos níveis de monócitos CD16<sup>+</sup>, elevação de CSF1 plasmático e elevação de soro de ALT, AST, CK e LDH. A menor concentração plasmática de cabiralizumabe na qual ocorreu um efeito biológico para cada marcador variou de 5 µg/mL a 105 µg/mL e a dose de cabiralizumabe que correspondeu a 5 µg/mL à concentração sérica máxima (C<sub>máx</sub>) foi estimada em 0,2 mg/kg, a dose inicial recomendada em voluntários saudáveis.

#### **1.7.2.2 NIVOLUMABE**

[0311] Verificou-se que o nivolumabe se liga especificamente ao receptor PD-1 humano e não a membros relacionados da família CD28, como ICOS, CTLA-4 e BTLA (BI do Nivolumabe, 2014). O nivolumabe inibe a interação de PD-1 com os seus ligantes, PD-L1 e PD-L2, resultando em melhora na proliferação de células T e na liberação de IFN-γ *in vitro* (Velu, 2009; BI do nivolumabe, 2014). A análise do separador de células ativadas por fluorescência (FACS) confirmou que o nivolumabe se liga ao ovário de hamster chinês (CHO) transfectado e a células T humanas ativadas que expressam a superfície celular PD-1 e ao PD-1 de macaco cinomologos, mas não a moléculas de PD-1 de rato ou coelho. Verificou-se também que o nivolumabe se liga a PD-1 em células TCD8<sup>+</sup> específicas de vírus de pacientes com vírus da hepatite C infectados cronicamente (Kaufmann, 2008; Rutebemberwa, 2008).

[0312] A inibição de PD-1 em um MLR resultou na melhora reprodutível dependente da concentração da liberação de IFN-γ no MLR até 50 µg/mL. Nenhum efeito foi observado com um controle de isotipo IgG<sub>4</sub>

humano ou células T CD4<sup>+</sup> e células dendríticas (DC) controles (Wang, 2014).

[0313] Em estudos de toxicidade de doses repetidas intravenosas (IV) em macacos cinomolgos, o nivolumabe foi bem tolerado em doses até 50 mg/kg, administrado semanalmente durante 5 semanas e em doses até 50 mg/kg, administrado duas vezes por semana para 27 doses. Os achados relacionados ao nivolumabe foram limitados a uma diminuição reversível de 28% na tri-iodotironina (T<sub>3</sub>) entre as fêmeas administradas com 27 doses de 50 mg/kg de nivolumabe. Não foram observadas alterações correspondentes no nível de tiroxina (T<sub>4</sub>), hormônio estimulante da tireoide (TSH) ou alterações histológicas na tireoide. Enquanto o nivolumabe sozinho foi bem tolerado em macacos cinomolgos, os estudos de combinação realçaram o potencial de toxicidade aumentada quando combinados com outros agentes imunoestimuladores (BI do Nivolumabe, 2014).

[0314] O ipilimumabe (BMS-734016), um anticorpo monoclonal (mAb) anti-CTLA-4 que bloqueia a regulação negativa da ativação de células foi usado em combinação com nivolumabe para investigar os efeitos da inibição simultânea dos receptores PD-1 e CTLA-4 em primatas não humanos (BI do Nivolumabe, 2014). Embora a toxicidade gastrointestinal (GI) não tenha sido observada em macacos cinomolgos tratados somente com nivolumabe, a toxicidade GI dose-dependente foi evidente em macacos cinomolgos tratados semanalmente durante 4 semanas com uma combinação de nivolumabe + ipilimumabe em combinações de 10 e 3 mg/kg e 50 e 10 mg/kg, respectivamente. Os efeitos GI também foram observados com uma baixa incidência após administração de ipilimumabe (BI do Nivolumabe).

[0315] Além disso, um estudo melhorado de desenvolvimento pré e pós-natal (ePPND) em macacos cinomolgos grávidas com nivolumabe foi realizado (BI do Nivolumabe, 2014). A administração de nivolumabe até 50 mg/kg a cada 2 semanas foi bem tolerada por macacas grávidas; no entanto,

determinou-se que nivolumabe era um tóxico de desenvolvimento seletivo quando administrado desde o período de organogênese até o parto a  $> 10$  mg/kg (área sob a curva concentração-tempo (AUC) a partir do tempo zero a 168 horas ( $AUC_{(0-168\text{ h})}$ )  $117.000\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ). Especificamente, foi observada uma maior mortalidade no desenvolvimento (incluindo perdas fetais gestacionais tardias e prematuridade extrema com mortalidade neonatal associada) na ausência de toxicidade materna manifesta. Não houve alterações relacionadas ao nivolumabe em lactentes sobreviventes testadas ao longo dos 6 meses do período pós-natal. Embora a causa destas falhas de gravidez tenha sido indeterminada, os efeitos relacionados com o nivolumabe na manutenção da gravidez são consistentes com o papel estabelecido de PD- L1 na manutenção da tolerância feto materna em camundongos (Habicht, 2007).

### **1.7.3 RESUMO CLÍNICO**

#### **1.7.3.1 CABIRALIZUMABE**

##### **1.7.3.1.1 RESUMO DO ESTUDO EM CURSO DE CABIRALIZUMABE**

[0316] O cabiralizumabe está atualmente sendo avaliado em um estudo duplo-cego, aleatório, controlado por placebo em ensaios humanos, projetado em 3 partes para estudar segurança, PK e PD em voluntários saudáveis e pacientes com RA. As duas primeiras partes do estudo foram realizadas em voluntários saudáveis e foram concluídas. Na Parte 1, 8 voluntários saudáveis foram escolhidos aleatoriamente (3: 1) para receber uma única infusão IV de cabiralizumabe ou placebo, por coorte de dose de 0,2, 1, 3 ou 10 mg/kg. Na Parte 2, 8 voluntários saudáveis foram escolhidos aleatoriamente (3:1) para receber 2 doses de cabiralizumabe ou placebo administrado com 14 dias de intervalo, a 1 mg/kg ou 3 mg/kg. A Parte 3 do estudo irá avaliar cabiralizumabe em pacientes com RA e está atualmente em andamento. Os dados das Partes 1 e 2 são resumidos abaixo.

**1.7.3.1.2 RESUMO DE FARMACOLOGIA CLÍNICA DE CABIRALIZUMABE**

[0317] A PK de cabiralizumabe foi avaliada medindo os níveis sistêmicos da droga ao longo do tempo em todos os 36 indivíduos que receberam cabiralizumabe nas Partes 1 e 2. As amostras de sangue para determinação das concentrações séricas de cabiralizumabe foram coletadas em pré-dose e em vários pontos no tempo até 112 Dias (para a Parte 1) ou 98 dias (para a Parte 2) após a primeira dose. Adicionalmente, amostras de sangue para determinação de anticorpos anti-Cabiralizumabe foram coletadas em pré-dose e em vários pontos no tempo a partir do Dia 15 até o Dia 85 (para a Parte 1) ou do Dia 15 ao Dia 99 (para a Parte 2).

[0318] Após uma única administração de cabiralizumabe a 0,2, 1, 3 e 10 mg/kg, a depuração total diminuiu com o aumento da dose e variou de 38,7 a 2,55 mL/dia/kg. A depuração total de 2,55 mL/dia/kg a 10 mg/kg está dentro da faixa para um anticorpo monoclonal IgG humano típico. A  $C_{m\acute{a}x}$  aumentou proporcionalmente com a dose, mas a AUC não. Após 2 doses administradas com 14 dias de intervalo, não houve acúmulo a 1 mg/kg. No entanto, quando a dose aumentou para 3 mg/kg, observou-se uma média de 1,60 vezes o acúmulo de droga entre a primeira e a segunda dose para a AUC do dia 1 ao dia 15, enquanto que a acúmulo mínima foi observada para  $C_{m\acute{a}x}$  no mesmo nível de dose. Os dados de PK observados sugeriram que o CSF1R expresso na linhagem de monócitos/macrófagos e outros tipos de células contribuiu para a depuração mediada por alvo de cabiralizumabe. Como as células de monócitos e macrófagos são dependentes de CSF1R para viabilidade, estas células de suporte de direcionamento são reduzidas em número após tratamento com cabiralizumabe, resultando em uma diminuição da depuração mediada pelo alvo. Uma vez que a depuração mediada pelo alvo é saturada em doses elevadas ou repetidas, a depuração de cabiralizumabe é similar a outros anticorpos IgG humanos.

[0319] A imunogenicidade de cabiralizumabe foi avaliada com o uso de um ensaio de eletroquimioluminescência (ECLA) validado que mediu os anticorpos totais de cabiralizumabe no soro. O limite de detecção (sensibilidade) do ensaio foi de 39,1 ng/mL. Três sujeitos da coorte 2 (dose única de 1 mg/kg) apresentaram títulos de anticorpos rastreados positivos, resultando em 8,3% de incidência (3 de 36 indivíduos que receberam cabiralizumabe). Os títulos de anticorpos positivos rastreados foram primeiro observados no Dia 15 para 2 indivíduos e no Dia 57 para 1 sujeito. Dois sujeitos ainda tinham títulos de ADA positivo no Dia 85 (o último ponto de tempo testado). A presença de ADAs teve um impacto negligenciável na exposição a cabiralizumabe, se houve, quando comparada aos indivíduos sem ADAs na mesma coorte de dose, e não houve sequelas clínicas associadas com base nos dados disponíveis.

[0320] O tratamento com cabiralizumabe induziu uma redução dependente da dose de monócitos CD16<sup>+</sup> não clássicos como um marcador de PD para o tratamento com cabiralizumabe. Analisou-se a relação entre a concentração sérica de cabiralizumabe e a redução de monócitos CD16<sup>+</sup> não clássicos e verificou-se ser dependente da concentração com base nos dados coletados 72 horas após o tratamento até ao final do estudo. A  $\geq 5$  µg/mL de cabiralizumabe no soro, observou-se uma redução máxima de monócitos CD16<sup>+</sup> não clássicos. Portanto, espera-se que a dose para atingir a concentração sérica de soro a  $\geq 5$  µg/mL na maioria dos pacientes seja a dose alvo para a redução máxima dos monócitos CD16<sup>+</sup> não clássicos. A exposição ótima necessária para alcançar a eficácia clínica continua a ser explorada em ensaios clínicos com o uso de cabiralizumabe em pacientes.

[0321] Em resumo, cabiralizumabe exibiu depuração não linear na faixa de dose testada. As características de PK observadas em voluntários saudáveis suportam a dosagem de cabiralizumabe uma vez a cada 2 semanas

ou menos frequentemente para manter a exposição desejada de droga.

#### **1.7.3.1.3 RESUMO DE SEGURANÇA CLÍNICA DE CABIRALIZUMABE**

[0322] O número total de indivíduos que receberam cabiralizumabe foi de 36 tanto para a Parte 1 como para a Parte 2 com 6 indivíduos em cada coorte de dose. As decisões de escalonamento de dose basearam-se na incidência de DLT mais os AEs atribuídos além do período de DLT.

[0323] O cabiralizumabe foi bem tolerado em voluntários saudáveis até 3 mg/kg de doses múltiplas. As toxicidades mais comuns relacionadas ao tratamento com cabiralizumabe foram prurido, edema palpebral juntamente com inchaço facial, fadiga e dor de cabeça. Os eventos foram de Grau 1 ou 2, e autolimitados. O perfil de AE é similar ao que foi relatado em outros compostos direcionados à via de CSF1R (Cassier, 2014). A 10 mg/kg, todos os 6 sujeitos ativos sentiram edema moderado (Grau 2) da pálpebra ou edema facial, alguns acompanhados com inchaço nas mãos e pés, visão embaçada e aumento de peso. Os eventos duraram até 3 meses e coincidiram com exposição prolongada de cabiralizumabe neste nível de dose.

[0324] O cabiralizumabe mostrou elevação das enzimas hepáticas, atingindo um pico de 2-8 semanas após a administração da droga e voltando à normalização 12 semanas após a descontinuação da droga. Elevações dose- dependentes de CK até 6,8 vezes o limite superior da normalidade (LSN) e LDH até 3,2 vezes a LSN a 1 mg/kg ou mais foram observadas; as elevações de AST até 2,4 vezes a LSN ocorreram a 3 mg/kg ou mais e ocorreram a uma maior percentagem de voluntários saudáveis com doses crescentes; e a elevação leve de ALT até 1,2 vezes a LSN ocorreu em 10 mg/kg em 1 indivíduo. Estas elevações foram consideradas como sendo devido ao mecanismo de ação da inibição mediada por cabiralizumabe das células de Kupffer, ao invés de qualquer falha ou lesão orgânica e não foram



consideradas clinicamente significativas. O cabiralizumabe foi inicialmente testado em voluntários saudáveis a uma dose de 1 mg/kg e 3 mg/kg de peso corporal. A 1 mg/ kg, 7 indivíduos receberam uma dose única e 5 indivíduos receberam 2 doses em intervalos de 14 dias e foram acompanhados através da janela de DLT de 28 dias. No grupo voluntário saudável de 3 mg/kg, 10 indivíduos receberam uma dose única e 2 indivíduos receberam 2 doses com 14 dias de intervalo e foram seguidos para DLTs. Apenas 1 sujeito na coorte de 3 mg/kg teve um aumento simultâneo de Grau 1 de fosfatase alcalina e AST.

### **1.7.3.2 NIVOLUMABE**

#### **1.7.3.2.1 RESUMO DE FARMACOLOGIA CLÍNICA DE NIVOLUMABE**

[0325] A PK de dose única de nivolumabe foi avaliada em pacientes com múltiplos tipos de tumor em CA209001, enquanto a PK de dose múltipla está sendo avaliada em pacientes em CA209003. Além disso, foi desenvolvido um modelo farmacocinético populacional preliminar (PPK) com dados de 350 pacientes de CA209001, CA209002, e CA209003.

[0326] A PK de nivolumabe foi estudada em pacientes com uma faixa de dose de 0,1 a 20 mg/kg administrados como uma dose única ou como doses múltiplas a cada 2 ou 3 semanas. Com base em uma análise PPK com o uso dos dados de 909 pacientes, a depuração (CL) (CV%) é 9,5 mL/h (49,7%), a média geométrica do volume de distribuição em estado estacionário (Vss) é de 8,0 L (30,4%) e a média geométrica de meia-vida de eliminação (t<sub>1/2</sub>) é de 26,7 dias (101%). As concentrações no estado estacionário de nivolumabe foram atingidas por 12 semanas quando administradas a 3 mg/kg a cada 2 semanas e a acúmulo sistêmica foi aproximadamente 3 vezes superior. A exposição ao nivolumabe aumentou a dose proporcionalmente sobre a faixa de dose de 0,1 a 10 mg/kg administrado a cada 2 semanas (bula do Opdivo, 2015).

[0327] Baseada na análise de PK de população com o uso dos

dados de 909 pacientes, a depuração de nivolumabe aumentou com o aumento do peso corporal suportando uma dose baseada em peso. A análise de PK populacional sugeriu que os seguintes fatores não tiveram efeito clinicamente importante na depuração do nivolumabe: idade (29 a 87 anos), gênero, raça, LDH basal, expressão de PD-L1, tipo de tumor, tamanho do tumor, insuficiência renal e insuficiência hepática branda (bula do Opdivo, 2015).

#### **1.7.3.2.2 RESUMO DE SEGURANÇA DE NIVOLUMABE**

[0328] De modo geral, o perfil de segurança da monoterapia com nivolumabe, bem como a terapia combinada, é gerenciável e geralmente consistente entre os ensaios clínicos concluídos e em andamento sem ter a dose máxima tolerada (MTD) atingida em qualquer dose testada até 10 mg/kg. Não houve padrão na incidência, gravidade ou causalidade dos AEs para o nível da dose de nivolumabe. A maioria dos AEs eram de baixo grau (Grau 1 a 2) com relativamente poucos AEs de alto grau (Grau 3 a 4) relacionados. A maioria dos eventos de alto Grau foi gerenciável com o uso de corticosteroides ou terapia de reposição hormonal (endocrinopatias) conforme instruído nos algoritmos de gerenciamento fornecidos na BI do nivolumabe (BI do Nivolumabe, 2014).

[0329] Um total de 39 e 306 pacientes com recorrência seletiva ou malignidades refratárias ao tratamento foram tratados em um estudo de Fase 1 de dose única concluído (CA209001) e um estudo em andamento de Fase 1 multidoses (CA209003), respectivamente. Como o perfil de segurança de CA209003 até a data é consistente com o observado para CA209001, apenas os dados do estudo maior e mais recente, CA209003, são apresentados abaixo.

[0330] Em CA209003 (n = 306, incluindo 129 pacientes com NSCLC), a partir do bloqueio da base de dados 05-Mar-2013, ocorreram AEs relacionados com drogas de qualquer Grau em 75% dos pacientes. Os AEs

mais frequentes relacionados à droga ocorrem em pelo menos 5% dos pacientes, incluindo fadiga (28%), erupção cutânea (15%), diarreia (13%), prurido (11%), náuseas (9%) e diminuição do apetite (9%), diminuição da hemoglobina (6%) e pirexia (6%). A maioria dos eventos foi de Grau baixo, com AEs relacionados à droga de Grau 3/4 observados em 17% dos pacientes. Os AEs mais frequentes relacionados à droga de Grau 3/4 que ocorreram em pelo menos 1% dos pacientes foram fadiga (2%), pneumonite (1%), diarreia (1%), dor abdominal (1%), hipofosfatemia (1%) e linfopenia (1%). SAEs relacionados à droga ocorreram em 14% dos pacientes; 8% foram Grau 3/4 incluindo pneumonite (1%) e diarreia (1%). O espectro, frequência e gravidade dos AEs relacionados à droga foram geralmente similares entre os níveis de dose testados. Uma revisão dos dados de segurança por tipo de tumor (RCC, NSCLC, câncer de próstata metastático resistente à castração (mCRPC), câncer colorretal (CRC) e melanoma) também não mostrou diferenças clinicamente significativas na proporção de pacientes com AEs observados entre os tipos de tumor.

[0331] Os AEs selecionados com potencial causalidade imunológica, anteriormente denominados “eventos adversos relacionados à imunidade” ou “eventos adversos de interesse especial” também foram analisados, considerando múltiplos eventos, com taxas ajustadas para a duração do tratamento. A maioria dos eventos ocorreu nos primeiros 6 meses de terapia; toxicidades cumulativas ou novas não foram observadas com a exposição prolongada a droga. Dezenove dos 306 pacientes (6%) sentiram o Grau 3/4 de AEs relacionados ao tratamento selecionado. Cinquenta e dois dos 230 pacientes (23%) com AEs relacionados à droga necessitaram de gerenciamento com glicocorticoides sistêmicos e/ou outros agentes imunossupressores. Vinte e um de 52 (40%) retomaram o tratamento com nivolumabe após a toxicidade ser resolvida, enquanto que os outros

descontinuaram a terapia.

[0332] Embora a progressão tumoral tenha sido a causa mais comum de mortalidade, houve 3 mortes relacionadas à droga associadas à pneumonite de Grau 3/4. Pneumonite (em qualquer Grau) ocorreu em 12 de 306 pacientes (4%) e pneumonite de Grau 3/4 em 4 pacientes (1%), com apresentações clínicas variando de anormalidades radiográficas assintomáticas a infiltrados pulmonares progressivos e difusos associados à tosse, febre e/ou dispneia. Não foi observada uma relação clara entre a ocorrência de pneumonite e tipo de tumor, nível de dose ou duração do tratamento. Em 9 de 12 pacientes, a pneumonite foi reversível após a suspensão do tratamento e/ou com terapia imunossupressora (glicocorticoides, infliximabe, micofenolato).

[0333] Outros detalhes sobre o perfil de segurança de nivolumabe, incluindo resultados de outros estudos clínicos, estão também disponíveis na BI e no manual informativo (BI do Nivolumabe, 2014; bula do Opdivo, 2015).

### **1.8 AVALIAÇÃO DE RISCO/BENEFÍCIO TOTAL**

[0334] Diversas drogas candidatas que se direcionam à via de CSF1R estão sendo estudados na clínica. Estas incluem anticorpos que bloqueiam a ligação do ligante agonista a CSF1R ou inibem a dimerização de CSF1R bem como moléculas pequenas que bloqueiam a atividade quinase de CSF1R. A segurança, PK e PD de PD-0360324, um anticorpo para CSF1, em voluntários saudáveis tem sido relatada (Sadis, 2009). A maioria dos achados significativos do tratamento emergente (níveis aumentados de enzimas hepáticas) e AEs (isto é, edema periorbital) exibidos com o tratamento com PD-0360324 são consistentes com os dados obtidos até o momento com cabiralizumabe.

[0335] Um estudo clínico de RG7155 (um anticorpo anti-dimerização de CSF1R) incluiu pacientes com tumores de células gigantes de tipo difuso (Dt-GCT). Todos os sete pacientes avaliados mostraram resposta

metabólica parcial em imagens FDG-PET (de acordo com a *European Organization for Research and Treatment of Cancer*), com dois pacientes abordando uma resposta metabólica completa. Cinco dos sete pacientes passaram a obter respostas parciais na primeira avaliação. Assim como com outros agentes direcionando a via de CSF1R, o edema periorbital foi o AE mais comum (Ries, 2014).

[0336] O CSF1 é um fator de sobrevivência importante para TAMs e o direcionamento de CSF1R através de cabiralizumabe deve reduzir a imunossupressão mediada por TAM, resultando no reforço da resposta antitumoral à imunoterapia. A inibição de CSF1R por cabiralizumabe poderia limitar a influência de TAMs no microambiente tumoral e ser complementar e aumentar as atuais terapias de câncer.

[0337] O nivolumabe demonstrou atividade clínica através de vários tipos de tumores, particularmente melanoma e NSCLC, onde já foi concedida a aprovação da FDA. O nivolumabe também demonstrou um perfil de segurança gerenciável. Os AEs mais comuns incluíram fadiga, erupção cutânea, prurido, diarreia e náuseas.

[0338] Relatos preliminares de inibidores específicos de CSF1R sugerem que cabiralizumabe pode ser um tratamento benéfico para pacientes com tumores malignos de tumores sólidos. A atividade clínica robusta demonstrada pelo nivolumabe em pacientes com melanoma avançado, NSCLC e RCC em combinação com um perfil de segurança gerenciável apoia o desenvolvimento deste tratamento em pacientes com cânceres avançados.

[0339] Com base nos dados de segurança clínica disponíveis, as toxicidades para cabiralizumabe e nivolumabe não se sobrepõem (com a exceção notável de elevações de enzimas hepáticas, discutidas abaixo) e, portanto, não são esperadas toxicidades cumulativas como resultado desta combinação. O cabiralizumabe tem sido associado ao edema periorbital, e

houve apenas um caso de edema periférico com nivolumabe. Adicionalmente, o nivolumabe tem sido associado a AEs relacionados com imunidade, e não houve nenhum AEs imunorrelacionados com cabiralizumabe até o momento.

[0340] Existe um aumento temporário nas enzimas hepáticas (CK, AST, ALT e LDH) em pacientes que tomam cabiralizumabe devido a uma redução das células de Kupffer, e isto não tem sido associado a qualquer evidência histopatológica de danos nos tecidos do fígado, cardíaco ou esquelético. O nivolumabe é conhecido por causar toxicidades hepáticas em baixa frequência. Devido ao potencial para a combinação de cabiralizumabe e nivolumabe para produzir enzimas hepáticas elevadas com diferentes mecanismos subjacentes, orientações de mitigação de risco foram concebidas para detectar rapidamente e responder adequadamente a qualquer evidência de perturbação hepática durante este estudo (Apêndice E).

[0341] Permanece uma necessidade médica não atendida para pacientes com câncer. Devido aos dados robustos não clínicos e clínicos que suportam estas duas moléculas, os mecanismos de ações não redundantes, baseados em imunidade e os dados atuais sobre segurança de múltiplos estudos clínicos, a combinação lógica dessas duas drogas pode ser benéfica para pacientes com câncer que necessitam de opções terapêuticas expandidas.

## **2 PLANO DE INVESTIGAÇÃO**

### **2.1 DESENHO E DURAÇÃO DO ESTUDO**

[0342] Este estudo é um estudo de Fase 1a e 1b, aberto, multicêntrico, de escalonamento de dose e expansão de dose para avaliar a segurança, tolerabilidade, PK e PD de cabiralizumabe como monoterapia e em combinação com nivolumabe em pacientes com cânceres avançados selecionados. O cabiralizumabe é um anticorpo monoclonal humanizado direcionado contra CSF1R e nivolumabe é um anticorpo monoclonal totalmente

humano direcionado contra PD-1. Para os braços de combinação do estudo, cabiralizumabe e nivolumabe serão dados no Dia 1 de cada ciclo de tratamento de 14 dias; nivolumabe será dado como uma infusão IV primeiro por 30 minutos, com um repouso de 30 minutos entre 2 infusões, seguido por uma infusão IV de cabiralizumabe de 30 minutos.

[0343] O estudo incluíra um escalonamento de dose de Fase 1a e uma expansão de dose de Fase 1b. A Fase 1a consiste em duas coortes de referência de monoterapia de cabiralizumabe (1aM1 e 1aM2) e três coortes de escalonamento de dose de cabiralizumabe em combinação com nivolumabe (1aC1, 1aC2 e 1aC3). A Fase 1b consiste em oito coortes (1b1 a 1b8) além de seis tipos de câncer. Os pacientes serão cadastrados tanto nas Fases 1aM, 1aC como na Fase 1b do estudo, mas não em duas ou todas as três. A esquemática do estudo é mostrada na Figura 6.

[0344] O estudo consistirá de 3 períodos, incluindo triagem (até 28 dias), tratamento e acompanhamento/acompanhamento de sobrevida.

#### **2.1.1 PERÍODO DE TRIAGEM**

[0345] Todas as avaliações de triagem devem ser completadas e revisadas pelo Investigador seguindo o Manual de Referência do Estudo para o processo de cadastramento para confirmar que os pacientes atendem todos os critérios de elegibilidade antes da primeira infusão da droga do estudo. O consentimento informado por escrito para a participação no estudo deve ser obtido antes de realizar quaisquer testes de triagem específicos ou procedimentos, que não são considerados padrão de cuidados. As avaliações de triagem serão realizadas dentro de 28 dias antes da primeira dose da droga do estudo, a menos que especificado de outra forma.

[0346] Os AEs relacionados com o procedimento de estudo que ocorrem após a assinatura do consentimento informado, ICF, e antes da administração da primeira dose da droga do estudo serão coletados durante

este período.

## **2.1.2 PERÍODO DE TRATAMENTO**

### **2.1.2.1 COORTES DE MONOTERAPIA DE FASE 1A (1AM1 E 1AM2) E COORTES DE ESCALONAMENTO DE DOSE DE COMBINAÇÃO (1AC1, 1AC2 E 1AC3)**

[0347] A Fase 1 consiste em duas coortes de referência de monoterapia de cabiralizumabe e três coortes de escalonamento de dose de cabiralizumabe em combinação com nivolumabe com mínimo de 3 pacientes cadastrados em cada coorte. Os níveis e programações de dose planejada para as coortes de Fase 1a são da seguinte forma:

Coorte 1aM1: 2 mg/kg de cabiralizumabe, q2w

Coorte 1aM2: 4 mg/kg de cabiralizumabe, q2w

Coorte 1aC1: 1 mg/kg de cabiralizumabe + 3 mg/kg de nivolumabe, q2w

Coorte 1aC2: 2 mg/kg de cabiralizumabe + 3 mg/kg de nivolumabe, q2w

Coorte 1aC3: 4 mg/kg de cabiralizumabe + 3 mg/kg de nivolumabe, q2w

A coorte de monoterapia com cabiralizumabe em 2 mg/kg (1aM1) e a coorte de combinação de 1 mg/kg de cabiralizumabe + nivolumabe (1aC1) serão iniciadas em primeiro lugar em paralelo com a ordem de cadastro sequencial, seguindo um projeto 3+3, começando com a coorte de monoterapia 1aM1. Os pacientes nestas coortes serão tratados durante um total de dois ciclos de tratamento de 14 dias dentro do período de DLT de 28 dias.

[0348] A coorte de monoterapia de cabiralizumabe a 4 mg/kg (1aM2) abrirá após o período de DLT ser liberado na coorte de monoterapia de cabiralizumabe a 2 mg/kg (1aM1); a coorte de combinação de 2 mg/kg de cabiralizumabe/nivolumabe só começará depois que os períodos de DLT forem depurados tanto na combinação de cabiralizumabe/nivolumabe 1aC1 como nas



coortes de monoterapia de cabiralizumabe 1aM1. A coorte de combinação de cabiralizumabe/nivolumabe a 4 mg/kg (1aC3) será aberta apenas após os períodos de DLT terem sido depurados na combinação de cabiralizumabe/nivolumabe 1aC2 e nas coortes de monoterapia de cabiralizumabe 1aM2. Dependendo do resultado da coorte de monoterapia de cabiralizumabe a 4 mg/kg, podem ser abertas coortes de dose intermediária mais altas ou mais baixas para monoterapia e terapia combinada (por exemplo, cabiralizumabe a 3 mg/kg sozinho ou em combinação com nivolumabe) por decisão do Comitê de Revisão de Coortes. Todas as decisões de escalonamento de dose serão baseadas na avaliação de DLTs, segurança geral e tolerabilidade. As decisões de escalonamento da dose serão acordadas entre os investigadores e o patrocinador. Antes de iniciar cada novo nível de dose ou expandir um nível de dose existente, será realizada uma teleconferência de segurança em que o(s) Investigador(es) e o Patrocinador irão analisar os dados do paciente, incluindo mas não se limitando a dados demográficos, dosagem de droga, medicamentos concomitantes, hematologia e química sérica e AEs; e conferir e documentar o acordo de que o escalonamento de dose ou a expansão de um nível de dose existente são considerados apropriados. Se o(s) Investigador(es) e o Patrocinador concordarem coletivamente, após a revisão dos dados de segurança, PK e PD, que deve ser usado um esquema diferente de escalonamento de dose (por exemplo, uma dose de cabiralizumabe intermediária de 3 mg/kg sozinha ou em combinação com nivolumabe) do que o descrito, isto será permitido. A revisão dos parâmetros de segurança, PK e PD pode informar as decisões de adicionar coortes com níveis de dose ou regimes de dose alternativos (por exemplo, dosagem menos frequente) de modo a obter uma exposição alvo ótima.

[0349] As decisões de avaliação e de inscrição de DLT seguirão as orientações na Tabela 2 abaixo.

**TABELA 2****ALGORITMO PARA DECISÕES DE ESCALONAMENTO DE DOSE DA FASE 1A**

Número de Pacientes com DLT em um determinado nível de dose	Regra de Decisão de Escalonamento de Dose
0/3	Escalonamento ocorrerá na próxima coorte de dose mais alta
1/3	Recrutar mais três pacientes na mesma coorte
$\geq 2/3$	Parar o recrutamento. Inserir mais três pacientes no menor nível de dose, se somente três foram inseridos anteriormente
1/6	Abertura da próxima coorte
$\geq 2/6$	Parar o cadastramento. Inserir mais três pacientes no menor nível de dose, somente se três foram inseridos anteriormente

[0350] O escalonamento de dose continuará na monoterapia e nos braços de tratamento de combinação até que a MTD ou a dose máxima planejada de cabiralizumabe seja atingida, com um mínimo de 3 pacientes cadastrados em cada coorte.

[0351] A MTD é definida como a dose mais alta associada a DLTs em menos de 33% dos pacientes (menos de 2 de cada 6 pacientes) que receberam terapia combinada de cabiralizumabe ou cabiralizumabe + nivolumabe, administrados durante o período de DLT de 28 dias. Esta será normalmente a dose recomendada para estudos posteriores; entretanto, com base na revisão dos dados de segurança, PK e PD, o RD poderia ser menor do que a MTD. Se a MTD não for atingida e a dose de cabiralizumabe mais alta avaliada sozinha ou em combinação com nivolumabe for bem tolerada, os dados serão revistos para avaliar se escalonamentos de dose adicionais até 6 mg/kg de cabiralizumabe são justificados.

[0352] Se a MTD não for atingida durante o escalonamento de dose de combinação da Fase 1a, ou ciclos subsequentes de tratamento em combinações de depuração de Fase 1a fornecem uma visão adicional sobre o perfil de segurança, uma RD pode ser selecionada com base na tolerabilidade

total, segurança, PK e PD.

[0353] Se um paciente na Fase 1aC não receber 2 doses de cada droga do estudo e não completar a avaliação de segurança (por exemplo, laboratório de segurança e/ou notificação de AE) no período de DLT de 28 dias por razões diferentes das relacionadas com AEs da droga (por exemplo, progressão da doença ou retirada do consentimento), então um paciente adicional será cadastrado na coorte de modo que a coorte tenha pelo menos três pacientes avaliáveis para o período DLT. Todas essas discussões e decisões serão documentadas como parte do processo de tomada de decisão de escalonamento de dose.

[0354] Após a conclusão do período de DLT de 28 dias, os pacientes de Fase 1a podem participar de um Período de Tratamento Prolongado seguindo as diretrizes na Seção 4.1.2.2.

#### **2.1.2.1.1 TOXICIDADE LIMITANTE DA DOSE**

[0355] Uma DLT é definida como um estudo relacionado à droga ≥ AE de Grau 3 (com o uso dos Critérios de Terminologia Comum para Eventos Adversos (CTCAE) v4.03)) do *National Cancer Institute* (NCI) ocorrendo durante o primeiro período de DLT de 28 dias, excluindo: O flare do tumor de Grau 3 (definido como dor local, irritação ou erupção cutânea localizada em locais de tumor conhecido ou suspeito), erupção de Grau 3, evento adverso imunológico de Grau 3 (irAE, definido abaixo) que resolveu para um Grau 1 ou menos dentro 28 dias, ou um AE relacionado com a infusão de Grau 3 temporária (resolução dentro de 6 horas após o início). Um irAE é definido como AE clinicamente significativo que está associado à exposição a drogas de estudo, de etiologia desconhecida, e é consistente com um mecanismo imunomediado.

#### **2.1.2.2 PERÍODO DE TRATAMENTO PROLONGADO DA FASE 1A**

[0356] Após a conclusão do período de DLT, os pacientes das

coortes de Fases 1aM e 1aC podem participar de um Período de Tratamento Estendido, que começa no Dia 1 do Ciclo 3 (Dia de Estudo 29).

[0357] Os pacientes da coorte de Fase 1aM são autorizados a continuar recebendo cabiralizumabe em monoterapia no mesmo nível de dose de cabiralizumabe e os pacientes da coorte de Fase 1aC são autorizados a continuar recebendo cabiralizumabe em combinação com nivolumabe nos mesmos níveis de dose até à progressão da doença, toxicidade inaceitável ou outra razão para a interrupção do tratamento.

### **2.1.2.3 COORTES DE EXPANSÃO DE FASE 1B**

[0358] Para caracterizar adicionalmente a segurança e a eficácia de cabiralizumabe em combinação com o nivolumabe, a Fase 1b irá cadastrar até 8 coortes de expansão em 6 tipos de câncer avançado. O recrutamento na Fase 1b começará quando um RD for identificado pelo Comitê de Revisão de Coortes baseado nos dados globais de segurança, tolerabilidade, PK e PD.

### **2.1.3 PERÍODO DE ACOMPANHAMENTO**

[0359] Os pacientes que descontinuarem o tratamento enquanto apresentam benefício clínico (resposta completa (CR), resposta parcial (PR) ou doença estável (SD)) por razões que não a progressão da doença devem ter acompanhamento para as avaliações dos tumores e qualquer AE relacionado à droga do estudo, conforme especificado abaixo. O período de acompanhamento começa na visita de Conclusão do Tratamento/Término Antecipado.

[0360] As visitas de acompanhamento incluem o seguinte (consulte a Seção 6 para a programação de regime completa):

As avaliações de tumor continuarão a cada 12 ( $\pm$  2) semanas.

[0361] A revisão dos AEs relacionados com as drogas de estudo, até estes AEs serem resolvidos, regressarem aos valores basais ou serem estabilizados por tratamento da avaliação do Investigador. Todos os AEs serão

documentados por um mínimo de 100 dias após a última dose OR até que qualquer uma das condições acima seja cumprida.

[0362] Durante o período de acompanhamento, se o paciente for submetido a terapia local (por exemplo, ressecção, radiação) ou se iniciar uma nova terapia sistêmica, o paciente deve ser acompanhado quanto à sobrevida a cada 3 meses (Seção 4.1.4).

#### **2.1.4 ACOMPANHAMENTO DE SOBREVIDA**

[0363] Um paciente que concorde com o acompanhamento da sobrevida após a retirada do tratamento do estudo, descontinua o tratamento com a droga do estudo devido à progressão da doença ou descontinua as visitas de acompanhamento descritas na Seção 4.1.3, será acompanhado de três em três meses quanto à sobrevida, ou mais frequentemente conforme necessário. O acompanhamento de sobrevida pode ser conduzido por telefone, ao invés de uma visita obrigatória pessoal.

#### **2.1.5 Duração Do Estudo**

[0364] Os pacientes que receberem a(s) droga(s) do estudo podem continuar enquanto experimentam um benefício clínico na opinião do Investigador ou até toxicidade inaceitável ou deterioração sintomática atribuída à progressão da doença, conforme determinada pelo Investigador após uma avaliação integrada dos dados radiográficos, resultados da biópsia (se disponível) e estado clínico, ou retirada do consentimento.

#### **2.1.6 Regras De Parada**

##### **2.1.6.1 REGRAS DE PARADA PARA FASE 1A**

[0365] Se dois ou mais pacientes em qualquer nível de dose sentiram uma DLT dentro do período de avaliação de DLT de 28 dias, os Investigadores e Patrocinadores irão rever os dados e seguir as diretrizes na Tabela 2 (Seção 4.1.2.1). Se o escalonamento de dose terminou devido a DLTs, então a dose avaliada abaixo daquela cuja regra de parada foi

convocada será declarada a MTD.

#### **2.1.6.2 REGRAS DE PARADA PARA TODAS AS COORTES**

[0366] O tratamento das toxicidades de Grau 4 ou 5 relacionadas com a droga seguirá as Tabelas de Gestão de Eventos Adversos (Apêndices E e F).

[0367] O Patrocinador discutirá estes casos com o Comitê de Revisão de Coorte e os Investigadores do estudo, conforme apropriado para determinar o cadastro adicional. Os IRBs serão notificados pelos Investigadores de todos os casos e decisões relativos à continuação do cadastro.

#### **2.1.6.3 REGRAS DE PARADA PARA DETERIORAÇÃO CLÍNICA**

[0368] As evidências clínicas acumuladas indicam que a emergência de respostas objetivas a agentes que ativam respostas imunitárias antitumorais pode seguir à cinética atrasada de semanas ou meses e pode ser precedida pela progressão aparente inicial da doença com o aparecimento de novas lesões ou com alguma ampliação das lesões, enquanto que certas lesões de índice estão regredindo (“resposta mista”). Dessa forma, é razoável permitir que os pacientes com progressão aparente continuem recebendo tratamento até que a progressão seja confirmada na próxima avaliação de imagem (Seção 5.3.8). Estas considerações devem ser equilibradas por julgamento clínico quanto ao fato do paciente estar se deteriorando clinicamente e ser improvável receber qualquer benefício do tratamento continuado.

[0369] Essa deterioração será avaliada como tendo ocorrido após um evento clínico que, na opinião do Investigador, é atribuível à progressão da doença e é improvável que se inverta com o tratamento continuado do estudo e, portanto, indica que o paciente não está se beneficiando do tratamento do estudo e não pode ser administrado pela adição de cuidados de suporte. A

decisão de parar o tratamento deve ser discutida com o Monitor Médico do Patrocinador ou encarregado. Exemplos de eventos que podem, na opinião do Investigador, indicar uma falta de benefício clínico incluem, mas não se limitam aos seguintes:

Aumento de escore do *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG) de pelo menos 2 pontos a partir do nível basal (por exemplo, de 0 para 2);

Alterações habituais, como alterações em atividades e sintomas, incluindo redução de apetite e/ou de sono, alteração de consciência e aumento de sintomas relacionados com a dor devido ao câncer;

Progressão da doença confirmada pelo Investigador que trata o paciente;

Qualquer ambiente onde o início de uma nova terapia antineoplásica tenha sido considerado benéfico para o paciente mesmo na ausência de quaisquer eventos clínicos documentados.

## **2.2 POPULAÇÃO DE ESTUDO**

### **2.2.1 NÚMERO PLANEJADO DE PACIENTES E CENTROS DE ESTUDO**

[0370] Estima-se que o número total de pacientes previstos para este estudo seja de 270; Aproximadamente 30 pacientes na Parte 1a e 240 pacientes na Parte 1b (aproximadamente 30 pacientes para cada uma das oito coortes de Fase 1b). Haverá de 65 a 70 centros de estudo que participam neste estudo. Durante o cadastro de qualquer coorte de expansão, se o número observado de respostas tornar improvável atingir uma taxa de resposta alvo para essa indicação (por exemplo, 10%), então o recrutamento adicional para essa coorte pode ser suspenso ou terminado.

### **2.2.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO PARA TODAS COORTES**

[0371] Para a entrada no estudo, TODOS os seguintes critérios devem ser atendidos:

1. Doença mensurável por Tomografia Computadorizada (CT)/formação de imagens por ressonância magnética (MRI) de acordo com Critérios de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos (RECIST) v1.1 e de preferência realizada dentro de 28 dias da primeira dose;
2. Os pacientes devem ter pelo menos 1 local de tumor que pode ser biopsiado e estarem dispostos a fazer biopsias pré-tratamento, no tratamento e pós-progressão recomendadas (exceto para pacientes na coorte de Glioblastoma); a biópsia pós-progressão é opcional para pacientes em coortes de Fase 1b. As biópsias serão realizadas de acordo com as diretrizes próprias da instituição de tratamento a partir de um mínimo de 10 pacientes em cada coorte de Fase 1 b;
3. Material de tumor arquivado fixado com formalina incorporado em parafina (FFPE), se disponível;
4. Compreender e assinar um ICF aprovado pelo IRB/IEC antes de qualquer avaliação específica do estudo;
5. Idade  $\geq$  18 anos;
6. Estado de desempenho ECOG de 0 ou 1;
7. Disposto e capaz de cumprir todos os procedimentos do estudo;
8. Radioterapia focal prévia deve estar completa pelo menos 2 semanas antes da primeira dose de administração da droga do estudo. Nenhum radiofármaco (estrôncio, samário) dentro de 8 semanas antes da administração da droga do estudo;
9. Cirurgia prévia que necessita de anestesia geral deve ser





- b. Bilirrubina  $< 1,5 \times \text{LSN}$  (exceto pacientes com síndrome de Gilbert, que devem ter bilirrubina total  $< 3 \text{ mg/dL}$ );
11. Mulheres de potencial fértil (WOCBP) devem ter gonadotrofina coriônica  $\beta$ -humana negativa ( $\beta$ -hCG) na Triagem e concordar em usar uma forma confiável de contracepção (por exemplo, contraceptivos orais, dispositivo intrauterino ou método de barreira dupla de preservativo e espermicida) durante pelo menos 28 dias antes da primeira dose de qualquer droga do estudo durante o Período de Tratamento (e Tratamento/Acompanhamento se receber a droga do estudo), e durante pelo menos 23 semanas após a última dose de qualquer droga do estudo. Serão seguidos os requisitos específicos do país (por exemplo, no Reino Unido, as mulheres de potencial fértil e os pacientes do sexo masculino e seus parceiros de potencial fértil devem usar dois métodos de contracepção, um dos quais deve ser um método de barreira durante o período de estudo);
12. Os homens sexualmente ativos com WOCBP devem concordar em seguir as instruções para o(s) método(s) de contracepção durante a duração do tratamento com a droga do estudo e por mais de 31 semanas após completar o tratamento.

### **2.2.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO PARA TODAS COORTES**

[0372] Os pacientes que atendem QUALQUER um dos seguintes critérios serão excluídos da entrada no estudo:

- 1. Atual ou história de distúrbios musculares clinicamente significativos (por exemplo, miosite), lesão muscular

recente não resolvida ou qualquer condição conhecida por elevar os níveis séricos de CK;

2. As doses imunossupressoras de drogas sistêmicas, como esteroides ou esteroides tópicos absorvidos (doses > 10 mg/dia de prednisona ou equivalente diariamente) devem ser descontinuadas pelo menos 2 semanas antes da administração do medicamento de estudo, exceto no caso de tratamento de AE relacionado com o tumor. São permitidos pacientes com uma condição que necessite de tratamento sistêmico crônico com corticosteroides (esteroides inalados ou tópicos e doses de esteroides de substituição adrenal > 10 mg/dia de prednisona equivalente) ou outras medicações imunossupressoras dentro de 2 semanas de tratamento, na ausência de doença autoimune ativa;
3. Diminuição da função cardíaca com NYHA > Classe 2;
4. Disfunção cardíaca descontrolada ou significativa, como angina instável;
5. Anomalias significativas no ECG na triagem. QTcF > 450 msec para homens > 470 msec para mulheres na triagem;
6. Histórico de anticorpos anti-drogas, reação alérgica grave, anafilática ou outra reação relacionada com infusão a um agente biológico anterior;
7. Histórico conhecido de sensibilidade à infusões contendo *Tween* 20 (polissorbato 20) e polissorbato 80;
8. Consumo de leite não pasteurizado regularmente, ou risco significativo conhecido de exposição a infecções intracelulares oportunistas, tal como por listeria ou outros

patógenos;

9. Terapias de vacinas não oncológicas para a prevenção de doenças infecciosas (por exemplo, vacina contra HPV) dentro de 4 semanas da administração da droga do estudo. A vacina inativada contra a gripe sazonal pode ser administrada a sujeitos antes do tratamento e durante a terapia sem restrição. Podem ser permitidas vacinas contra a gripe contendo vírus vivos ou outras vacinas clinicamente indicadas para doenças infecciosas (ou seja, pneumovax, varicela, etc.); mas deve ser discutido com o Monitor Médico do Patrocinador e pode necessitar de um período de limpeza da droga (*washout*) antes e após a administração da vacina;
10. Infecção atual não resolvida ou histórico de infecção crônica, ativa, clinicamente significativa (viral, bacteriana, fúngica ou outra) que, na opinião do Investigador, impediria o paciente da exposição a um agente biológico ou colocaria em risco a segurança do paciente;
11. Teste positivo para tuberculose latente (TB) na Triagem (Teste de Quantiferon) ou evidência de TB ativa;
12. Falta de acesso venoso periférico ou qualquer condição que interfira na administração de medicamentos ou na coleta de amostras do estudo;
13. Qualquer condição médica descontrolada ou transtorno psiquiátrico que, na opinião do investigador, represente um risco para a segurança do paciente ou interfira com a participação no estudo ou a interpretação dos resultados individuais do paciente;

14. Uso concomitante de estatinas durante o estudo. No entanto, um paciente que use estatinas durante mais de 3 meses antes da administração da droga do estudo e em estado estável sem aumento de CK pode ser autorizado a entrar no estudo;
15. Gravidez ou amamentação;
16. Doença autoimune ativa, conhecida ou suspeita. Pacientes com *diabetes mellitus* tipo I, hipotireoidismo que necessite apenas de reposição hormonal, disfunções cutâneas (como vitiligo, psoríase ou alopecia) que não necessitem de tratamento sistêmico ou condições que não se espera que recorrem na ausência de um gatilho externo;
17. Pacientes que participam em outro estudo com fármaco sob investigação, dentro de 28 dias antes da primeira dose de administração da droga do estudo, ou enquanto neste estudo;
18. Histórico conhecido de teste positivo para o vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2 ou síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS);
19. Teste positivo para o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) ou ácido ribonucleico do vírus da hepatite C (HCV RNA) detectável indicando infecção aguda ou crônica;
20. Doença pulmonar intersticial sintomática ou pneumonite inflamatória;
21. Metástases leptomeníngicas ou no sistema nervoso central (SNC) não tratadas ou ativas. Os pacientes são elegíveis se as metástases tiverem sido tratadas e os pacientes

forem devolvidos neurologicamente ao nível basal (exceto para os sinais ou sintomas residuais relacionados com o tratamento do SNC) durante pelo menos 2 semanas antes da primeira dose de administração da droga do estudo;

22. A evidência de cirrose hepática, confirmada por elevação da fosfatase alcalina e elevação concomitante da relação ALT/AST e hipoalbuminemia ( $< 3,0$  g/dL);
23. Evidência de coagulopatia ou diátese hemorrágica;
24. Qualquer doença inflamatória GI não controlada, incluindo doença de Crohn e colite ulcerativa;
25. Exposição anterior a quaisquer inibidores da via de CSF1R;
26. Transfusão concluída dentro de 72 horas antes da primeira dose de administração da droga do estudo.

#### **2.2.4 CRITÉRIOS ADICIONAIS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO PARA COORTES**

##### **SELECIONADAS**

##### **2.2.4.1 FASE 1A**

##### **2.2.4.1.1 COORTES DE MONOTERAPIA DE CABIRALIZUMABE**

[0373] Inclusão:

1. O tumor sólido histologicamente ou citologicamente que é localmente recorrente ou metastático e progrediu após tratamento padrão ou não é apropriado para tratamento padrão.

##### **2.2.4.1.2 COORTES DA COMBINAÇÃO DE CABIRALIZUMABE + NIVOLUMABE**

[0374] Inclusão:

1. O tumor sólido histologicamente ou citologicamente que é localmente recorrente ou metastático e progrediu após tratamento padrão ou não é apropriado para tratamento padrão.

[0375] Exclusão:

1. Exposição anterior a qualquer droga direcionada a via de PD-1.

#### **2.2.4.2 FASE 1B**

##### **2.2.4.2.1 COORTE 1B1: NSCLC (NÃO EXPOSTO COM TERAPIA DE ANTI-PD-1, SEGUNDA OU TERCEIRA LINHA).**

[0376] Inclusão:

1. Pacientes com NSCLC escamoso ou não escamoso histologicamente ou citologicamente documentado que apresentam doença em Estádio IIIB ou IV (de acordo com a versão 7 da associação internacional *Study of Lung Cancer Staging manual in Thoracic oncology*) e com recorrência ou doença progressiva após terapia multimodal (radioterapia, ressecção cirúrgica ou quimiorradioterapia definitiva) para doença localmente avançadas ou metastáticas.

[0377] 2. Pacientes com progressão ou recorrência da doença durante/após um regime de dupla quimioterapia baseada em platina para doença metastática ou avançada:

- A terapia de manutenção após quimioterapia dupla baseada em platina não é considerada um regime de terapia separado;
- Sujeitos que receberam adjuvante contendo platina, neoadjuvante ou quimiorradioterapia definitiva dada para doença localmente avançada, e desenvolveram doença recorrente (local ou metastática) dentro de 6 meses da conclusão terapêutica são elegíveis;
- Sujeitos com doença recorrente > 6 meses após a terapia adjuvante contendo platina, neoadjuvante ou

quimiorradioterapia definitiva para doença localmente avançada, que também progrediram subsequentemente durante ou após um regime duplo baseado em platina dado para tratar reincidência, são elegíveis.

[0378] Exclusão:

1. Exposição anterior a qualquer droga direcionada a via de PD-1.

**2.2.4.2.2 COORTE 1B2: NSCLC (PACIENTES REFRATÁRIOS A DROGAS QUE TEM ANTI-PD-1 COMO ALVO).**

[0379] Inclusão:

1. Pacientes com NSCLC histologicamente ou citologicamente documentado que apresentam doença com Estádio IIIB localmente avançada ou Estádio IV;
2. Paciente tem evidência radiológica de progressão da doença durante tratamento com uma droga direcionada à PD-1 que não produz uma resposta clínica (isto é, nem CR nem PR) e com doença progressiva como a melhor resposta;
3. Para serem considerados refratários, os pacientes não devem ter tido nenhuma resposta clínica após receber pelo menos 2 doses de qualquer droga direcionada à PD-1.

[0380] Exclusão:

1. Intolerância a qualquer droga direcionada à via de PD-1.

[0381] A intolerância é definida como qualquer tratamento relacionado a AE de Grau 4 ou qualquer tratamento relacionado a AE de Grau 2 ou 3 que é inaceitável para o paciente e persisti apesar de contramedidas padrão.

**2.2.4.2.3 COORTE 1B3: MELANOMA (NÃO EXPOSTO À TERAPIA ANTI-PD-1)**



[0382] Inclusão:

1. Pacientes com melanoma de Estádio III ou IV histologicamente ou citologicamente documentado de acordo com o sistema de estadiamento da *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) que são tanto refratários, intolerantes como aqueles que recusaram terapia padrão para tratamento de melanoma metastático;
2. Evidências objetivas de progressão da doença (clínica ou radiológica) durante ou após pelo menos inibidor de BRAF 1 (se positivo para mutação de BRAF V600);
3. BRAF tipo selvagem conhecido por teste de estado mutacional V600 regionalmente aceitável.

[0383] Exclusão:

1. Terapia anterior com qualquer droga direcionada para a via de PD-1;
2. Sujeitos com BRAF mutante e aqueles com estado de BRAF indeterminado ou desconhecido não estão autorizados a participar deste estudo.

**2.2.4.2.4 COORTE 1B4: MELANOMA (REFRATÁRIO OU RECIDIVO NA DROGA DIRECIONADA A PD-1)**

[0384] Inclusão:

1. Pacientes com melanoma em Estádio III ou IV irresssecável, histologicamente ou citologicamente documentado de acordo com o sistema de estadiamento AJCC;
2. Paciente tem evidência radiológica de progressão da doença durante tratamento com uma droga de direcionamento de PD-1 ou inibidor de ponto de controle que não produzir um benefício clínico (sem CR, PR ou SD)

e doença progressiva como a melhor resposta ou progressão da doença após o benefício clínico inicial de CR, PR ou SD enquanto recebendo tratamento com uma droga de direcionamento de PD-1;

3. Para serem considerados refratários, os pacientes não devem ter tido nenhuma resposta clínica após receber pelo menos 2 doses de qualquer droga direcionada a PD-1;
4. Evidências objetivas de progressão da doença (clínica ou radiológica) durante ou após pelo menos inibidor de BRAF 1 (se positivo para mutação de BRAF V600);
5. Antes da terapia anticâncer incluindo dacarbazina, inibidor de BRAF (se positivo para mutação de BRAF V600) e/ou ipilimumabe e a radioterapia paliativa deve ter sido concluída pelo menos 3 semanas antes para administração da droga do estudo;
6. Nenhum tratamento anterior com droga direcionada a PD-1 dentro de 6 semanas antes da primeira dose da droga do estudo.

[0385] Exclusão:

1. Sujeitos com BRAF mutante e aqueles com estado de BRAF indeterminado ou desconhecido não estão autorizados a participar deste estudo;
2. Melanoma ocular;
3. Intolerância anterior a qualquer droga direcionada a PD-1.

[0386] A intolerância é definida como qualquer tratamento relacionado a AE de Grau 4 ou qualquer tratamento relacionado a AE de Grau 2 ou 3 que é inaceitável para o paciente e persisti apesar de contramedidas padrão. A razão para a intolerância deve ser totalmente documentada.

**2.2.4.2.5 COORTE 1B5: CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE CABEÇA E PESCOÇO (SCCHN) (SEGUNDA LINHA)**

[0387] Inclusão:

1. Pacientes com SCCHN recorrente ou metastático histologicamente ou citologicamente documentado (cavidade oral, faringe, laringe), Estádio III ou IV e não tratável com terapia local com intenção curativa (cirurgia ou radioterapia com ou sem quimioterapia) podem ser incluídos nesta coorte);
2. Progressão ou reincidência de tumor dentro de 6 meses da última dose de terapia de platina na configuração adjuvante (ou seja, com radiação após cirurgia), primária (isto é, com radiação), recorrente ou metastática. A progressão clínica após terapia de platina é um evento permissível para entrada e é definida como progressão de uma lesão com pelo menos 10 mm de tamanho que é acessível para medição por paquímetro (por exemplo, lesão de pele superficial de acordo com RECIST v1.1) ou uma lesão que foi visualizada e registrada fotograficamente com medições e mostrou ter progredido.

[0388] Exclusão:

1. Carcinoma recorrente ou metastático confirmado histologicamente da nasofaringe e qualquer glândula salivar ou histologia não escamosa;
2. Exposição anterior a qualquer droga direcionada a via de PD-1.

**2.2.4.2.6 COORTE 1B6: CÂNCER PANCREÁTICO (SEGUNDA LINHA)**

[0389] Inclusão:

1. Adenocarcinoma de pâncreas localizado ou metastático histologicamente ou citologicamente documentado, que falharam (ou não são indicados) para terapia padrão;
2. Os pacientes que passaram por cirurgia, radioterapia para a gestão do adenocarcinoma do pâncreas localmente avançado ou metastático com a condição de que a progressão da doença tenha sido documentada. Todas as toxicidades devem ser resolvidas e a última fração de tratamento com radiação foi concluído pelo menos 4 semanas antes da primeira administração da droga do estudo.

[0390] Exclusão:

1. Pacientes com neoplasias de células das ilhotas, neuroendócrino ou outros tumores primários no pâncreas;
2. Pacientes com pancreatite ativa;
3. Exposição anterior a qualquer droga direcionada a via de PD-1;
4. Ascites de Grau 2 ou superior.

#### **2.2.4.2.7 COORTE 1B7: CÂNCER COLORRETAL (TERCEIRA LINHA)**

[0391] Inclusão:

1. Adenocarcinoma de cólon ou reto histologicamente ou citologicamente documentado;
2. CRC metastático com progressão da doença documentada após a última administração de terapias padrão ou intolerância a terapias padrão (e terapias aprovado tiveram que incluir uma fluoropirimidina, oxaliplatina, irinotecano, bevacizumabe e, se KRAS tipo selvagem, cetuximabe ou panitumumabe).

[0392] Exclusão:

1. Exposição anterior a qualquer droga direcionada a via de PD-1.

**2.2.4.2.8 COORTE 1B8: GLIOMA MALIGNO (PRIMEIRA REINCIDÊNCIA)**

[0393] Inclusão:

1. Glioma maligno avançado grau IV pelos critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS) histologicamente ou citologicamente documentado (glioblastoma ou gliosarcoma);
2. Tratamento anterior com cirurgia, radioterapia e temozolamida;
3. Primeira reincidência documentada de GBM por biópsia diagnóstica ou MRI de contraste melhorado realizada dentro de 21 dias da primeira administração da droga do estudo por Avaliação de Resposta em critérios de Neuro-oncologia (RANO);
4. No caso de esteroides, a dose deve ser estável ou diminuída para um mínimo de 5 dias antes da data de MRI de nível basal.

[0394] Exclusão:

1. Tratamento anterior com bevacizumabe ou outro agente que tem VEGF ou VEGFR como alvo;
2. Evidências recentes de hemorragia no SNC maior que grau 1 na varredura MRI no nível basal;
3. Histórico ou evidências mediante exame fisiológico/neurológico de doença no SNC (por exemplo, convulsões) não relacionadas ao câncer a menos que adequadamente controlado por medicação ou que

potencialmente interferem no tratamento em estudo;

4. Pacientes que não conseguem ter uma MRI aumentada em contraste de cabeça devido a uma condição médica pré-existente incluindo um marca-passo ou dispositivo cardioversor desfibrilador implantável (ICD);
5. Mais que 1 reincidência de glioblastoma ou gliosarcoma;
6. Exposição anterior a qualquer droga direcionada a via de PD-1.

### **2.3 MEDICAMENTOS CONCOMITANTES**

[0395] Todas as medicações tomadas no prazo de 28 dias antes da administração da primeira dose de qualquer droga do estudo e todas as terapias concomitantes administradas durante o estudo até cem dias após a última dose de qualquer droga do estudo serão registradas.

[0396] As informações sobre todos os tratamentos anteriores indicados para câncer avançado, incluindo quimioterapia, bioquimioterapia, imunoterapia, radiação, cirurgia, biológicos, e terapêutica experimental serão coletadas.

[0397] Nenhuma informação de medicação concomitante será coletada após descontinuação do paciente do estudo exceto para uso de medicação concomitante associado com AEs relacionados à droga ou AEs que levam à descontinuação do estudo.

#### **2.3.1 TRATAMENTOS PROIBIDOS E/OU RESTRITOS**

[0398] As seguintes medicações são proibidas durante o estudo (a menos que utilizadas para tratar um AE relacionado à droga ou especificado na seção de elegibilidade):

Agentes imunossupressores.

[0399] Doses imunossupressoras de corticosteroides sistêmicos. Os esteroides inalados ou tópicos e doses de esteroides de substituição

adrenal > 10 mg por dia de prednisona equivalente são permitidos na ausência de doença autoimune ativa. Os esteroides também são permitidos para tratar AEs relacionados com tumores conforme clinicamente indicado.

[0400] Vacinas, exceto conforme observado na Seção 4.3.2.

[0401] As estatinas para tratamento de hipercolesterolemia. As estatinas serão permitidas apenas se o paciente estiver em uma dose estável durante mais de 3 meses antes do estudo e estiver em estado estável sem qualquer elevação de CK.

[0402] Outras terapias incluindo agentes ou dispositivos biológicos, imunoterapia, radioterapia não paliativa extensiva, tratamentos padrão ou de investigação.

### **2.3.2 TERAPIA PERMITIDA**

[0403] Os pacientes são autorizados a utilizar corticosteroides tópicos, oculares, intra-articulares, intranasais e inalados (com absorção sistêmica mínima). São permitidas doses de esteroides de substituição adrenal > 10 mg por dia de prednisona. Um breve (menos de 3 semanas) curso de corticosteroides para a profilaxia (por exemplo, contraste alergia ao corante) ou para o tratamento de condições não autoimunes (por exemplo, reação de hipersensibilidade de tipo retardado causada por um alérgeno de contato) e também para o tratamento de AE relacionados com tumor são permitidos.

[0404] Os cuidados paliativos e de suporte concomitantes para sintomas relacionados com a doença (incluindo bisfosfonatos e inibidores de RANK-L) são permitidos se iniciados antes da primeira dose de administração da droga do estudo. Transfusões são permitidas conforme necessário.

[0405] A vacina inativada contra a gripe sazonal pode ser administrada a sujeitos durante a terapia sem restrição. Podem ser permitidas vacinas contra a gripe contendo vírus vivos ou outras vacinas clinicamente indicadas para doenças infecciosas (ou seja, pneumovax, varicela, etc.); mas

deve ser discutido com o Monitor Médico do Patrocinador e pode necessitar de um período de limpeza da droga (*washout*) antes e após a administração da vacina.

[0406] O uso concomitante de estatinas será permitido apenas se o paciente estiver em uma dose estável durante mais de 3 meses antes do estudo e estiver em estado estável sem qualquer elevação de CK.

[0407] Não será administrada uma pré-medicação de rotina para as doses iniciais de cabiralizumabe e nivolumabe. Se um paciente desenvolver náusea, vômito ou outros AE relacionados à infusão, o paciente pode ser pré-medocado com antieméticos, esteroides ou anti-histamínicos antes das infusões subsequentes das drogas do estudo, a critério do Investigador. O tratamento será administrado de acordo com a prática padrão da instituição, e deve ser capturado no CRF do paciente.

## **2.4 DESCONTINUAÇÃO DE PACIENTES APÓS QUALQUER TRATAMENTO COM A DROGA DO ESTUDO**

[0408] Os pacientes DEVEM descontinuar as drogas de estudo por qualquer uma das seguintes razões:

Retirada do consentimento informado (decisão do paciente de se retirar por qualquer motivo);

Qualquer AE clínico significativo, resultados anormais de testes laboratoriais ou doença intercorrente que, na opinião do Investigador, indique que a participação contínua no estudo não é do melhor interesse do paciente;

Os pacientes que têm necessidade de ter medicações concomitantes proibidas;

Gravidez;

Término do estudo pelo Patrocinador;

Perda de capacidade de fornecer livremente consentimento através de prisão ou encarceramento involuntário para tratamento tanto de uma



doença psiquiátrica como física (por exemplo, doença infecciosa);

Progressão da doença documentada ou deterioração clínica ao receber a terapia ativa de estudo;

Não adesão pelo paciente;

Todos os pacientes que descontinuem o tratamento do estudo devem cumprir os procedimentos de acompanhamento especificados no protocolo, conforme descrito na Seção 6. A única exceção a este requisito é quando um paciente retira o consentimento para todos os procedimentos do estudo ou perde a capacidade de consentir livremente (isto é, está encarcerado ou involuntariamente encarcerado para o tratamento de uma doença tanto psiquiátrica como física);

Se um paciente foi retirado antes de completar o estudo, o motivo da retirada deve ser indicado no CRF apropriado. A data e a razão para o encerramento de cabiralizumabe e/ou nivolumabe serão documentadas, e o Investigador deve fazer todos os esforços para realizar os procedimentos de visita de Conclusão de Tratamento/Término Antecipado. Os pacientes serão acompanhados durante 100 dias após a última dose de cabiralizumabe para segurança e aqueles com SAEs em andamento serão acompanhados tanto até resolução como estabilização.

## **2.5 ACOMPANHAMENTO PÓS-TRATAMENTO**

[0409] Pacientes que suspendem o tratamento enquanto ainda estão recebendo benefício clínico (isto é, CR, PR ou SD) devem obter acompanhamento por varreduras dos tumores conforme o protocolo para determinar a duração de resposta, a menos que o consentimento seja retirado.

## **3 MEDICAMENTOS DO ESTUDO**

[0410] Neste estudo, ambas as drogas de estudo, cabiralizumabe e nivolumabe, são consideradas Produtos (Medicinais) Investigacionais (IP/IMP). As descrições de produto para cabiralizumabe e nivolumabe estão

descritas na Tabela 3 e Tabela 4.

**TABELA 3**

**DROGA DO ESTUDO PARA COORTES DE MONOTERAPIA DA FASE 1A**

<b>Descrição do Produto / Classe e Forma de Dosagem</b>	<b>Potência</b>	<b>IP</b>	<b>Aberto</b>	<b>Embalagem / Aparência</b>	<b>Condições de Armazenamento (por rótulo)</b>
Cabiralizumabe Solução para Injeção	100 mg (20 mg/mL)	5 mL por frasco	10 frascos por caixa/aberto	Estéril, aquosa, incolor, solução sem pirôgenio em frascos de vidro Tipo 1 de 5 mL com rolhas de borracha butílica e lacres de alumínio flip-up	2 a 8°C (36 a 46°F). Proteger de congelamento

**TABELA 4**

**DROGAS DE ESTUDO PARA ESCALONAMENTO DE DOSE COMBINADA DE FASE 1A E**

**COORTES DE EXPANSÃO DE DOSE DE FASE 1B**

<b>Descrição do Produto / Classe e Forma de Dosagem</b>	<b>Potência</b>	<b>IP</b>	<b>Aberto</b>	<b>Embalagem / Aparência</b>	<b>Condições de Armazenamento (por rótulo)</b>
Nivolumabe Solução para Injeção	100 mg (10 mg/mL)	10 mL por frasco	10 frascos por caixa/aberto	Claro para incolor opalescente para líquido amarelo pálido. Pode conter partículas Estéril, aquosa, incolor, solução sem pirôgenio em frascos de vidro Tipo 1 de 10 mL com rolhas de borracha butílica e lacres de alumínio <i>flip-up</i>	2 a 8°C Proteger da luz e congelamento
Cabiralizumabe Solução para Injeção	100 mg (20 mg/mL)	5 mL por frasco	X frascos por caixa/aberto		2 a 8°C (36 a 46°F). Proteger de congelamento

Descrição do Produto / Classe e Forma de Dosagem	Potência	IP	Aberto	Embalagem / Aparência	Condições de Armazenamento (por rótulo)

### **3.1 PRODUTOS DE INVESTIGACIONAIS**

[0411] Um produto investigacional, também conhecido como produto medicinal de investigação em algumas regiões, é definido como uma forma farmacêutica de uma substância ativa ou placebo sendo testado ou usado como referência em um estudo clínico, incluindo produtos já com uma autorização de comercialização mas usados ou montados (formulados ou empacotados) de forma diferente da forma autorizada, ou usados para uma indicação não autorizada, ou quando usados para adquirir mais informações sobre a forma autorizada. Neste protocolo, os produtos de investigação são cabiralizumabe e nivolumabe.

### **3.2 DOSAGEM DA DROGA DO ESTUDO E MODIFICAÇÃO DA DOSE**

#### **3.2.1 DOSAGEM**

[0412] Para a terapia combinada, o nivolumabe sempre deve ser administrado primeiro como uma infusão IV de 30 minutos, com um repouso de 30 minutos entre as 2 infusões, seguido por infusão de 30 minutos de cabiralizumabe. Os pacientes podem ser dosados não menos que 12 dias a partir da dose anterior.

[0413] Para a coorte de monoterapia de 4 mg/kg (1aM2) e coortes de escalonamento de dose de combinação 1aC2 e 1aC3, o intervalo de dose entre o primeiro e o segundo paciente em cada coorte deve ser pelo menos 24 horas para monitoramento de segurança.

[0414] Cálculos de dosagem devem ser baseados no peso corporal avaliado no Ciclo 1 Dia 1 antes da primeira dose da administração da droga do estudo. Não é necessário recalculas as doses subsequentes se o peso do paciente estiver dentro de 10% do peso usado para calcular a dose

anterior. Todas as doses devem ser arredondadas para o valor mais próximo de miligrama.

[0415] Os pacientes devem ser monitorados cuidadosamente para reações de infusão durante a administração da droga do estudo. Se uma reação de infusão aguda é observada, pacientes deverão ser geridos de acordo com as diretrizes na Seção 5.3.10 e Apêndices E e F.

[0416] As doses de drogas de estudo podem ser interrompidas, prorrogadas ou descontinuadas dependendo de como o paciente tolera o tratamento.

[0417] Todos os frascos são para uso único. Instruções adicionais sobre preparação da droga do estudo e administração serão fornecidas no Manual de Farmácia.

#### **3.2.1.1 DOSAGEM DE NIVOLUMABE**

[0418] Os pacientes em coortes de terapia combinada receberão a infusão de nivolumabe primeiro em uma dose de 3 mg/kg como uma infusão IV de 30 minutos, no Dia 1 de cada ciclo de tratamento de 14 dias.

[0419] Não haverá nenhum escalonamento de dose ou redução de nivolumabe permitido. Os pacientes podem ser dosados não menos que 12 dias a partir da dose anterior. Não existem medicações pré-recomendadas para nivolumabe no primeiro ciclo. Consulte a BI do nivolumabe para a preparação e instruções de manuseio.

#### **3.2.1.2 DOSAGEM DE CABIRALIZUMABE**

[0420] Para pacientes nas coortes de terapia combinada, a infusão de cabiralizumabe será administrada 30 minutos após o final da infusão de nivolumabe como uma infusão IV de 30 minutos, no Dia 1 de cada ciclo de tratamento de 14 dias. Para pacientes na coorte de monoterapia, a infusão de cabiralizumabe pode ser iniciada a qualquer momento como uma infusão IV de 30 minutos no Dia 1 de cada ciclo de tratamento de 14 dias.

[0421] A dosagem de cabiralizumabe pode ser modificada com base nas toxicidades notadas durante o período de tratamento. Se necessário, a dose será ajustada com base na tabela de modificação de toxicidade (Apêndices E e F).

[0422] Um farmacêutico de pesquisa (ou outro pessoal responsável) preparará a solução para a administração. Após o cálculo do número de frascos, com base no peso do paciente, o produto fármaco do estudo será diluído com injeção de cloreto de sódio a 0,9%, USP. O cabiralizumabe preparado deve ser administrado dentro de 6 horas após a preparação (temperatura ambiente). A configuração da administração IV para infusão de cabiralizumabe deve conter um filtro de linha de 0,22 µm ou um filtro de seringa de 0,22 µm. O cabiralizumabe será administrado sob supervisão médica como uma infusão IV de 30 minutos ( $\pm$  5 minutos) através de uma veia periférica ou cateter venoso central. Nenhuma incompatibilidades entre a infusão de cabiralizumabe e componentes IV cloreto de polivinil (PVC), etileno/propileno IV ou garrafas de vidro foi observada.

### **3.2.2 ATRASO DE DOSE PARA CABIRALIZUMABE E NIVOLUMABE**

[0423] A administração de cabiralizumabe em monoterapia ou HuABI/nivolumabe em terapia combinada deve ser adiada pelos seguintes motivos:

[0424] Qualquer fadiga de Grau 3 que não se resolver para Grau 1 ou nível basal antes da próxima visita de tratamento.

[0425] Qualquer anormalidade laboratorial relacionada à droga de Grau 2 ou 3 não necessitaria de um adiamento de dose a menos que clinicamente indicado ou especificado no protocolo ou na tabela de Gerenciamento de Eventos Adversos. Favor conversar com o Monitor Médico do Patrocinador ou encarregado conforme necessário.

[0426] Para adiamentos ou modificações de dose para todos os

outros AEs favor consultar as tabelas de Gerenciamento de AE no Apêndice E.

[0427] Pacientes que necessitam de um adiamento de dose de cabiralizumabe ou cabiralizumabe ou nivolumabe devem ser reavaliados semanalmente ou com mais frequência se clinicamente indicado e retomar a dosagem da droga do estudo quando os critérios de novo tratamento são atendidos.

[0428] Se um paciente sentir uma reação de infusão ao cabiralizumabe ou nivolumabe, ou ambas as drogas de estudo, a reação de infusão deve ser tratada após as diretrizes de tratamento de reação de infusão na Seção 5.3.10 e Apêndices E e F.

### **3.2.3 CRITÉRIOS PARA RETOMAR O TRATAMENTO COM CABIRALIZUMABE E**

#### **NIVOLUMABE**

[0429] Pacientes podem retomar o tratamento com cabiralizumabe ou cabiralizumabe + nivolumabe quando o(s) AE(s) relacionado(s) à droga se resolve(m) para Grau  $\leq 1$  ou de nível basal conforme observado nas tabelas de gerenciamento de AE nos Apêndices E e F.

### **3.2.4 REDUÇÃO DE DOSE COM CABIRALIZUMABE**

[0430] As reduções de dose para cabiralizumabe podem ser permitidas para pacientes em tratamento prolongado além do período DLT na Fase 1a ou qualquer paciente na Fase 1b conforme as diretrizes nas tabelas de gerenciamento de AE nos Apêndices E e F. Se reduções ou interrupções de doses que não se incluem dentro dessas diretrizes estão sendo consideradas pelo Investigador, estas exigirão a discussão e aprovação por parte do Patrocinador ou encarregado.

### **3.2.5 CRITÉRIOS DE DESCONTINUAÇÃO DA DOSE PARA CABIRALIZUMABE E**

#### **NIVOLUMABE**

[0431] O tratamento de cabiralizumabe em monoterapia ou cabiralizumabe em combinação com nivolumabe deve ser permanentemente

descontinuado pelos seguintes motivos:

[0432] Qualquer uveíte relacionada à droga de Grau 2, dor nos olhos ou visão turva que não responde à terapia tópica e não melhorar para Grau 1 no segundo período OR de novo tratamento que necessita de tratamento sistêmico.

[0433] Quaisquer reações relacionadas à infusão de Grau 3 ou superior e hipersensibilidade que necessita de descontinuação e novo início de terapia necessitará de consulta com o Monitor Médico do Patrocinador ou encarregado.

[0434] Qualquer AE relacionado à droga que não seja na pele com duração de > 7 dias, incluindo uveíte relacionada à droga, pneumonite, hipóxia, broncoespasmo e endocrinopatias com as seguintes exceções:

[0435] Endocrinopatias relacionada à droga de Grau 3 adequadamente controladas somente com substituição hormonais fisiológicas não necessitam de descontinuação.

[0436] Anormalidades laboratoriais relacionadas à droga de Grau 3 não necessitam de descontinuação de tratamento exceto:

[0437] Trombocitopenia relacionada à droga de Grau 3 > 7 dias ou associado com sangramento Grau > 2 necessita de descontinuação.

[0438] Qualquer anormalidade do teste de função de fígado relacionado à droga (LFT) que atenda os seguintes critérios exige descontinuação:

[0439] AST ou ALT 10 x LSN.

[0440] Bilirrubina total > 3 x LSN (> 5 x LSN com metástase de fígado concomitante).

[0441] AST ou ALT > 3 x bilirrubina total LSN E > 2 x LSN, na ausência de aumento concomitante de fosfatase alcalina.

[0442] Qualquer AE relacionado à droga de Grau 4 ou

anormalidade laboratorial, exceto para os seguintes eventos que não necessitam de descontinuação:

[0443] Grau 4 de neutropenia < 7 dias.

[0444] Linfopenia ou leucopenia de Grau 4 < 7 dias.

[0445] Amilase de Grau 4 isolada ou anormalidades que não estão associadas com sintomas ou manifestações clínicas da pancreatite. O Monitor Médico do Patrocinador deve ser consultado para amilase Grau 4 ou anormalidades de lipase.

[0446] Desequilíbrio eletrolítico isolado de Grau 4/anormalidades que não estão associadas com sequelas clínicas e são corrigidas com suplementação/gestão apropriada dentro de 72 horas de seu aparecimento.

[0447] AEs de endocrinopatia relacionados à droga de Grau 4, como insuficiência adrenal, deficiência de hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), hiper ou hipotireoidismo, intolerância à glicose, que se resolvem ou são adequadamente controlados com substituição hormonal fisiológica (corticosteroides, hormônios tireoidianos) ou agentes de controle de glicose, respectivamente, pode não necessitar da descontinuação após discussão e aprovação do Monitor Médico do Patrocinador.

[0448] Qualquer evento que leva ao adiamento na dosagem com duração > 6 semanas a partir da dose anterior necessita de descontinuação, com as seguintes exceções:

[0449] Adiamentos na dosagem para permitir redução de esteroides prolongados para gerenciar eventos adversos relacionados à droga são permitidos. Antes de reiniciar o tratamento em um paciente com um adiamento de dosagem com duração > 6 semanas a partir da dose anterior, o Monitor Médico do Patrocinador deve ser consultado. Avaliações tumorais devem continuar de acordo com o protocolo, mesmo se a dosagem for adiada. Visitas periódicas de estudo para avaliar a segurança e estudos de laboratório



também devem continuar conforme protocolo, ou mais frequentemente se clinicamente indicado durante esses adiamentos de dosagem ou a critério do Investigador.

[0450] Atrasos de dosagem com duração > 6 semanas a partir da dose anterior que ocorrem por razões relacionadas à droga podem ser permitidos se aprovado pelo Monitor Médico do Patrocinador. Antes de reiniciar o tratamento em um paciente com um adiamento de dosagem com duração > 6 semanas, o Monitor Médico do Patrocinador deve ser consultado. As avaliações tumorais devem continuar conforme protocolo a cada 8 semanas, mesmo se a dosagem for adiada. As visitas periódicas de estudo para avaliar a segurança e estudos de laboratório também devem continuar conforme protocolo, ou mais frequentemente se clinicamente indicado durante esses adiamentos de dosagem ou a critério do Investigador.

[0451] Qualquer AE, anormalidade laboratorial ou doença intercorrente que, no julgamento do Investigador, apresente um risco clínico substancial para o paciente com a continuação de cabiralizumabe e/ou dosagem de nivolumabe.

[0452] Qualquer toxicidade neurológica de Grau 3 ou superior.

[0453] Qualquer edema periorbital Grau 3 ou maior e edema periorbital Grau 2 persistente que necessite de 2 doses perdidas a menos que seja aprovado pelo Monitor Médico do Patrocinador.

[0454] Qualquer diarreia ou colite relacionada à droga de Grau 3 ou superior que interfere nas atividades de vida diária.

[0455] Qualquer toxicidade cutânea de Grau 3 ou 4.

[0456] Qualquer uveíte de Grau 3 ou superior.

[0457] Se a causalidade do evento adverso que necessita de descontinuação for confirmada como sendo devido a uma das drogas de estudo na terapia combinada, a outra droga pode ser continuada por

programação do protocolo mediante os seguintes cenários:

[0458] Resolução atempada do evento adverso do tratamento com base na tabela de modificação.

[0459] O benefício clínico é mostrado pelo sujeito com base na avaliação do Investigador.

### **3.2.6 ATRASOS DE INFUSÃO E DOSES PERDIDAS COM CABIRALIZUMABE E**

#### **NIVOLUMABE**

[0460] No caso de uma infusão não poder ser administrada em uma programação de visita, ela deve ser administrada logo que possível. Se o atraso for entre 1 e 3 dias, os procedimentos na visita original agendada devem ser realizados. Se o atraso for mais do que 3 dias, os procedimentos na visita seguinte devem ser realizados, e as visitas subsequentes serão redefinidas para seguir um intervalo de dosagem de 2 semanas (a infusão na visita original programada será considerada uma dose perdida). O tempo entre dois ciclos de tratamento não deve ser menor que 12 dias.

[0461] Os pacientes podem perder até 2 doses consecutivas (até 6 semanas entre as doses) e podem retomar a droga do estudo se o evento retornar para o nível basal ou  $\leq$  Grau 1 dentro de 6 semanas de interrupção do tratamento. A omissão de dosagem adicional por mais de 6 semanas para AEs necessitará da descontinuação do paciente do estudo, a menos que permitido pelo Patrocinador. Os pacientes podem perder doses no decurso da participação no estudo, incluindo doses perdidas para férias regulares ou outros motivos pessoais conforme necessário, mas não mais que 2 doses sequencialmente, a menos que seja aprovado pelo Monitor Médico do Patrocinador.

### **3.2.7 ESCALONAMENTO DE DOSE INTRAPACIENTE COM CABIRALIZUMABE E**

#### **NIVOLUMABE**

[0462] O escalonamento de dose intrapaciente não é permitido

para nivolumabe ou cabiralizumabe.

### **3.2.8 PROGRESSÃO DA DOENÇA DEPOIS DO TRATAMENTO COM CABIRALIZUMABE**

#### **E NIVOLUMABE**

[0463] O acúmulo de evidências indica que uma minoria de pacientes tratados com imunoterapia pode tirar benefício clínico apesar de evidência inicial de doença progressiva (Wolchok, 2009).

[0464] Será permitido que os pacientes tratados com cabiralizumabe continuem o tratamento com cabiralizumabe e nivolumabe além da doença progressiva inicial definida por RECIST v1.1, avaliados pelo Investigador, desde que o seguinte critérios sejam atendidos:

[0465] Os pacientes que serão tratados depois da progressão da doença devem rever e assinar um ICF antes de continuar na droga do estudo.

[0466] Benefício clínico avaliado pelo Investigador, e não ter rápida progressão da doença.

[0467] Tolerância à drogas de estudo.

[0468] Estado de desempenho estável.

[0469] Tratamento além da progressão não irá atrasar uma iminente intervenção para prevenir complicações graves de progressão da doença (por exemplo, metástases para o SNC).

[0470] Uma avaliação/varredura radiográfica deve ser realizada aproximadamente 8 semanas após a progressão inicial avaliada pelo Investigador para determinar se houve uma diminuição no tamanho do tumor ou da doença progressiva continuada. A avaliação do benefício clínico deve ser equilibrada por julgamento clínico quanto ao fato do paciente estar se deteriorando clinicamente e ser improvável receber qualquer benefício do tratamento continuado com cabiralizumabe e nivolumabe.

[0471] Caso o investigador perceba que o paciente de cabiralizumabe e nivolumabe continua a obter benefício clínico continuando o

tratamento, o paciente deve permanecer no Ensaio e continuar a receber o monitoramento de acordo com o tempo e programações de eventos conforme protocolo.

[0472] Para os pacientes que continuam a terapia de estudo com nivolumabe para além da progressão, a progressão adicional é definida como um aumento adicional de 10% na massa tumoral a partir do tempo de progressão inicial. Isso inclui um aumento na soma dos diâmetros de todas as lesões alvo e/ou dos diâmetros de novas lesões mensuráveis em comparação ao tempo de progressão inicial. O tratamento com cabiralizumabe e nivolumabe deve ser descontinuado permanentemente mediante documentação de progressão adicional.

[0473] A avaliação de novas lesões seguirá as diretrizes em RECIST v1.1 (Apêndice G).

### **3.2.9 ALGORITMOS DE MODIFICAÇÃO DE DOSE PARA AGENTES DE IMUNO-ONCOLOGIA**

[0474] Os agentes de imuno-oncologia são associados com AEs que podem diferir em severidade e duração em comparação a AEs causados por outras classes terapêuticas. O cabiralizumabe e nivolumabe são considerados agentes de imuno-oncologia neste protocolo. O reconhecimento e gerenciamento precoce de AEs associados com agentes de imuno-oncologia podem mitigar a toxicidade severa. Desenvolveu-se algoritmos de gerenciamento para auxiliar os Investigadores na avaliação e gerenciamento das seguintes classes de AEs:

Gastrointestinal;

Renal;

Pulmonar;

Hepático;

Endocrinopatia;

Pele;  
Neurológico;  
Reação de infusão;  
Edema Periorbital;  
Uveíte.

### **3.2.10 TRATAMENTO DE REAÇÕES DE INFUSÕES RELACIONADAS COM**

#### **CABIRALIZUMABE E NIVOLUMABE**

[0475] O cabiralizumabe e nivolumabe podem induzir reações de infusão ou de hipersensibilidade. Se essa reação ocorrer, ela pode se manifestar com febre, calafrios, rigores, dor de cabeça, erupção cutânea, prurido, artralgia, hipo ou hipertensão, broncoespasmo ou outros sintomas.

[0476] As reações de infusão devem ser graduadas de acordo com diretrizes CTCAE v4.03. Qualquer reação de infusão de Grau 3 ou 4 deve ser relatada dentro de 24 horas para o estudo do Monitor Médico e relatada como um SAE se satisfizer os critérios.

[0477] A infusão de nivolumabe será administrada primeiro, com 30 minutos de repouso entre as 2 infusões, seguida por cabiralizumabe com 30 minutos de infusão. Pode não ser evidente se uma reação de infusão é devido a cabiralizumabe, nivolumabe ou a ambas as drogas de estudo. Portanto, é fornecido abaixo um conjunto de recomendações de tratamento (com base na maioria dos tratamentos conservadores para reações de infusão devido a qualquer droga do estudo) e pode ser modificado com base no julgamento clínico, padrões e diretrizes de tratamento locais e/ou sintomas específicos, conforme apropriado:

[0478] Para sintomas de Grau 1: (Reação branda (por exemplo, reações cutâneas localizadas, incluindo prurido brando, rubor, erupção cutânea), necessita que a taxa de infusão seja diminuída; intervenção pode ser indicada).

[0479] Diminuir a taxa de infusão de droga do estudo até a recuperação dos sintomas.

[0480] Permanecer no leito e monitorar os sinais vitais do paciente até a resolução dos sintomas. Difenidramina 50 mg pode ser administrada a critério do tratamento médico.

[0481] Quando os sintomas resolvem, reiniciar a infusão na taxa de infusão original.

[0482] Se um paciente tiver uma reação à infusão com nivolumabe, cabiralizumabe pode ser dada (sem medicações profiláticas) se a reação à infusão resolver dentro de 3 horas. Para propósitos de programação, a infusão de cabiralizumabe pode ser dada no dia seguinte. As medicações pré-infusão profiláticas devem ser dadas antes de todas as infusões de nivolumabe subsequentes.

[0483] Se um paciente tiver uma reação a infusão com cabiralizumabe, as medicações de pré-infusão profiláticas devem ser dadas antes de todas as infusões de nivolumabe e cabiralizumabe subsequentes.

[0484] As seguintes medicações de pré-infusão profiláticas são recomendadas antes de futuras infusões de cabiralizumabe e nivolumabe: difenidramina 50 mg (ou equivalente) e/ou paracetamol (acetaminofeno) 325 a 1000 mg pelo menos 30 minutos antes de administrações adicionais da droga do estudo.

[0485] Para sintomas de Grau 2: (Reação moderada (isto é, qualquer sintoma não listado acima (sintomas brandos) ou abaixo (sintomas graves) como prurido generalizado, rubor, erupção cutânea, dispneia, hipotensão com pressão sanguínea sistólica > 80 mmHg), necessita interrupção de infusão mas responde prontamente a tratamento sintomático (por exemplo, anti-histamínicos, drogas anti-inflamatórias não esteroidais, narcóticos, corticosteroides, fluidos IV); medicações de pré-infusão profiláticas

indicadas para < 24 horas).

[0486] Interromper a infusão da droga do estudo.

[0487] Iniciar uma infusão IV de solução salina normal e tratar o paciente com difenidramina 50 mg IV (ou equivalente) e/ou paracetamol (acetaminofeno) 325 a 1000 mg.

[0488] Permanecer no leito e monitorar os sinais vitais do paciente até a resolução dos sintomas. Pode ser administrada terapia com corticosteroide a critério do tratamento médico.

[0489] Quando os sintomas desaparecerem, reinicie a infusão a 50% da taxa de infusão original; se não houver complicação adicional após 30 minutos, a taxa pode ser aumentada para 100% da taxa de infusão original.

[0490] Monitorar o paciente de perto. Se os sintomas retornarem, suspender imediatamente a infusão; nenhum estudo adicional de droga será administrado nesta visita. Administrar difenidramina 50 mg IV, o paciente deve permanecer no leito e monitorar o paciente até a resolução dos sintomas.

[0491] Se um paciente tiver uma reação à infusão com nivolumabe, a infusão de cabiralizumabe pode ser dada (sem medicações profiláticas) se a reação à infusão resolver dentro de 3 horas. Para propósitos de programação, a infusão de cabiralizumabe pode ser dada no dia seguinte. As medicações pré-infusão profiláticas devem ser dadas antes de todas as infusões de nivolumabe subsequentes.

[0492] Se um paciente tiver uma reação a infusão com cabiralizumabe, as medicações de pré-infusão profiláticas devem ser dadas antes de todas as infusões de nivolumabe e cabiralizumabe subsequentes.

[0493] As seguintes medicações de pré-infusão profiláticas são recomendadas antes de futuras infusões de cabiralizumabe e nivolumabe: difenidramina 50 mg (ou equivalente) e/ou paracetamol (acetaminofeno) 325 a 1000 mg devem ser administradas pelo menos 30 minutos antes de

administrações adicionais da droga do estudo. Se necessário, podem ser usados corticosteroides (até 25 mg de SoluCortef ou equivalente).

[0494] A quantidade de droga do estudo infundida deve ser registrada.

[0495] Para Sintomas de Grau 3 ou Grau 4: (Reação grave como broncoespasmo, urticária generalizada, pressão arterial sistólica < 80 mmHg ou angioedema; sintomas de Grau 3 incluindo sintoma prolongada, que requer 6 ou mais horas para responder a medicação sintomática e/ou descontinuação da infusão; reincidência de sintomas após melhora inicial; hospitalização indicada para outras sequelas clínicas, como comprometimento renal, infiltrados pulmonares; Grau 4: potencialmente letal; suporte pressor ou de ventilação é indicado).

[0496] Suspender imediatamente a infusão da droga do estudo. Nenhuma droga do estudo adicional será administrada. A quantidade de droga do estudo infundida deve ser registrada no CRF.

[0497] Iniciar uma infusão IV de solução salina normal e tratar o paciente da seguinte forma: Recomendar broncodilatadores, epinefrina 0,2 a 1,0 mg de uma solução 1:1.000 para administração por via subcutânea ou 0,1 a 0,25 mg de uma solução 1:10.000 injetada lentamente para administração IV, e/ou difenidramina 50 mg IV com metilprednisolona 100 mg IV (ou equivalente), conforme necessário.

[0498] Permanecer no leito e monitorar os sinais vitais do paciente até a resolução dos sintomas.

[0499] O paciente deve ser monitorado até que o Investigador esteja confortável que os sintomas não retornarão.

[0500] Os Investigadores devem seguir as suas diretrizes institucionais para o tratamento de anafilaxia.

[0501] No caso de ocorrência tardia de sintomas de



hipersensibilidade (por exemplo, aparência de um prurido localizado ou generalizado dentro de 1 semana após o tratamento), pode ser dado tratamento sintomático (por exemplo, anti-histamínicos por via oral ou corticosteroides).

### **3.3 MÉTODO PARA ATRIBUIÇÃO DE IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE**

[0502] Os pacientes devem ser capazes de fornecer consentimento informado por escrito e satisfazer os critérios de elegibilidade. Nenhuma abdicação de critérios de inclusão ou exclusão será concedida pelo Patrocinador ou seu encarregado para qualquer paciente cadastrado no estudo. Antes de inscrever um paciente, todos os critérios de elegibilidade devem ser satisfeitos.

[0503] Pacientes que se qualificarem para a Fase 1a do estudo serão cadastrados da seguinte forma:

[0504] Três pacientes na coorte de monoterapia de Fase 1aM1 serão cadastrados primeiro para serem tratados com 2 mg/kg de cabiralizumabe a cada 14 dias durante os 28 dias de período de DLT.

[0505] Uma vez que a coorte de monoterapia acima é totalmente cadastrada, uma coorte (1aC1) de 3 novos pacientes será cadastrada para ser tratada com 1mg/kg de cabiralizumabe em combinação com 3 mg/kg de nivolumabe a cada 14 dias durante 28 dias de período de DLT.

[0506] O escalonamento de dose na coorte de monoterapia de cabiralizumabe a 4 mg/kg (1aM2) prosseguirá uma vez que o período de DLT esteja depurado na coorte de monoterapia de cabiralizumabe a 2 mg/kg (1aM1).

[0507] O escalonamento de dose em níveis de dose crescente de cabiralizumabe em combinação com nivolumabe prosseguirá até que as DLTs sejam observadas tanto na monoterapia de cabiralizumabe como no cabiralizumabe em combinação com coortes de nivolumabe após discussão e

acordo entre os Investigadores participantes e o Monitor Médico do Patrocinador.

[0508] Na Fase 1b, aproximadamente 30 pacientes serão cadastrados por coorte. O recrutamento será aberto para todas as coortes em paralelo e continuará até que o recrutamento alvo seja alcançado. Uma vez que uma coorte é preenchida, o recrutamento adicional será restrito para a(s) coorte(s) que não tenha(m) sido preenchida(s). Um total de aproximadamente 240 pacientes será cadastrado no braço de fase 1b do estudo.

[0509] O Investigador poderá repetir os testes de laboratório de qualificação e sinais vitais/ECGs antes do cadastramento se um diagnóstico de não qualificação for considerado um erro ou um diagnóstico agudo em um paciente que provavelmente irá satisfazer os critérios de elegibilidade após o teste ser repetido.

### **3.4 CEGAMENTO/DESOCULTAÇÃO DO ESTUDO**

[0510] Este é um estudo aberto e não haverá cegamento/mascaramento ou desmascaramento/desocultação de pacientes durante este estudo.

## **4 AVALIAÇÕES E PROCEDIMENTOS DE ESTUDO**

### **4.1 CRONOGRAMA DE AVALIAÇÕES**

[0511] A programação de tabelas de avaliação são anexadas ao protocolo conforme os Apêndices A, B e C.

### **4.2 PROCEDIMENTOS DO ESTUDO POR VISITA**

#### **4.2.1 MONOTERAPIA DA FASE 1A**

##### **4.2.1.1 PERÍODO DE TRIAGEM (DIA -28 AO DIA 0)**

[0512] Pacientes que tenham total consentimento para participação no estudo serão submetidos a avaliações de Triagem dentro de 28 dias (4 semanas) antes da administração da primeira infusão de cabiralizumabe (a menos que estabelecido de outra forma). Para determinar se

o paciente preenche todos os critérios de inclusão e não viola qualquer critério de exclusão, os seguintes procedimentos serão realizados (Apêndice A):

[0513] Termo de consentimento livre e esclarecido escrito e assinado deve ser coletado antes de qualquer procedimento específico do estudo.

[0514] Histórico médico e de doenças completo.

[0515] Características demográficas e basais.

[0516] Exame físico completo, incluindo altura e peso.

[0517] Sinais vitais (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso).

[0518] Avaliação de estado de desempenho ECOG.

[0519] Exames laboratoriais de triagem (conforme descrito no Apêndice A, nota de rodapé g).

[0520] Exames laboratoriais de segurança clínica (conforme descrito no Apêndice A, nota de rodapé h).

[0521] ECG de 12 derivações (necessário na Triagem, e se clinicamente indicado durante o estudo).

[0522] Imagem radiológica: CT/MRI é para ser realizada dentro de 28 dias antes da primeira infusão de cabiralizumabe. Se a RM é realizada como parte do padrão de atendimento do paciente dentro de 28 dias da infusão do primeiro estudo, não será necessária a repetição do exame se a documentação dos resultados for fornecida e for adequada para uma avaliação.

[0523] Teste de gravidez no soro ( $\beta$ -hCG), para mulheres de potencial fértil.

[0524] Coleta de biópsia (para análises descritas no Apêndice D).

[0525] Relatório de SAE, se aplicável.

[0526] Documentar medicamentos anteriores e concomitantes.

**4.2.1.2      CICLO 1, DIA 1**

[0527] Os seguintes procedimentos serão realizados:

[0528] Antes da infusão de cabiralizumabe (dentro de < 72 horas a menos que estabelecido de outra forma):

[0529] Verificação da elegibilidade.

[0530] Atualização do histórico médico e de doença para capturar quaisquer alterações a partir da Triage.

[0531] Exame físico, incluindo peso.

[0532] Sinais vitais (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso).

[0533] Avaliação de estado de desempenho ECOG.

[0534] Exames laboratoriais de segurança clínica (conforme descrito no Apêndice A, nota de rodapé h; os resultados devem ser revistos antes da dosagem).

[0535]  $\beta$ -hCG sérico (avaliado por laboratórios locais) será realizado  $\leq$  5 dias antes da primeira dose de Cabiralizumabe apenas em mulheres em idade fértil .

[0536] Coleta de sangue para:

[0537] Soro (para análises descritas no Apêndice D, excluindo análises de nivolumabe).

[0538] Sangue total (para análises descritas no Apêndice D).

[0539] PBMC congeladas (para análise de fenótipo de células T).

[0540] Relatórios de AE, se aplicável.

[0541] Revisão de medicamentos concomitantes.

[0542] Administração do medicamento do estudo: Cabiralizumabe por infusão IV durante 30 minutos.

[0543] Administração pós-Cabiralizumabe.

[0544] Sinais vitais pós-dose (frequência cardíaca, pressão

sanguínea e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso) nos seguintes pontos no tempo após conclusão da infusão IV:

[0545] 5 MINUTOS, 15 MINUTOS, 30 MINUTOS E 1 HORA.

[0546] 15 minutos ( $\pm$  5 minutos) pós-dose:

[0547] Coleta de sangue para soro (para PK de cabiralizumabe).

[0548] 4 minutos ( $\pm$  60 minutos) pós-dose:

[0549] Coleta de sangue para soro (para PK de cabiralizumabe).

#### **4.2.1.3      CICLO 1, DIA 2**

[0550] Os pacientes do estudo retornarão para o centro de estudo no Dia 2 por 24 horas de avaliações pós-dose ( $\pm$  6 horas). Nenhum tratamento será administrado durante esta visita, mas as seguintes avaliações serão concluídas:

[0551] Coleta de sangue para:

[0552] Soro (para PK de cabiralizumabe e painel multiplex de citocina).

[0553] Sangue total (para análise de expressão gênica).

[0554] Relatórios de AE, se aplicável.

[0555] Revisão de medicamentos concomitantes.

#### **4.2.1.4      CICLO 1, DIA 4**

[0556] Os pacientes do estudo retornarão para o centro de estudo no Dia 4 por 72 horas de avaliações pós-dose ( $\pm$  12 horas). Nenhum tratamento será administrado durante esta visita, mas as seguintes avaliações serão concluídas:

[0557] Coleta de sangue.

[0558] Soro (para PK de cabiralizumabe).

[0559] Sangue total (para monócito CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup> e análise de expressão gênica).

[0560] Relatórios de AE, se aplicável.

[0561] Revisão de medicamentos concomitantes.

**4.2.1.5**      **CICLO 1, DIA 8**

[0562] Os pacientes do estudo retornarão para o centro de estudo no Dia 8 por 168 horas de avaliações pós-dose ( $\pm$  24 horas). Nenhum tratamento será administrado durante esta visita, mas as seguintes avaliações serão concluídas:

[0563] Exame físico.

[0564] Sinais vitais (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso).

[0565] Exames laboratoriais de segurança clínica (conforme descrito no Apêndice A, nota de rodapé h).

[0566] Coleta de sangue para:

[0567] Soro (para PK de cabiralizumabe e painel multiplex de citocina).

[0568] Sangue total (para monócito CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup> e análise de expressão gênica).

[0569] PBMC congeladas (para análise de fenótipo de células T).

[0570] Relatórios de AE, se aplicável.

[0571] Revisão de medicamentos concomitantes.

**4.2.1.6**      **CICLO 2, DIA 1**

[0572] Os seguintes procedimentos serão realizados:

[0573] Antes da infusão de cabiralizumabe (dentro de < 72 horas a menos que estabelecido de outra forma):

[0574] Exame físico, incluindo peso.

[0575] Sinais vitais (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso).

[0576] Avaliação de estado de desempenho ECOG.

[0577] Exames laboratoriais de segurança clínica (conforme

descrito no Apêndice A, nota de rodapé h; os resultados devem ser revistos antes da dosagem):

[0578] Coleta de sangue para:

[0579] Soro (para análises descritas no Apêndice D, excluindo análises de nivolumabe).

[0580] Sangue total (para análises descritas no Apêndice D, exceto o painel MDSC).

[0581] PBMC congeladas (para análise de fenótipo de células T).

[0582] Relatórios de AE, se aplicável.

[0583] Revisão de medicamentos concomitantes.

[0584] Administração do medicamento do estudo: Cabiralizumabe por infusão IV durante 30 minutos.

[0585] Administração pós-Cabiralizumabe.

[0586] Sinais vitais pós-dose (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso) nos seguintes pontos no tempo após conclusão da infusão IV:

5 minutos, 15 minutos, 30 minutos e 1 hora.

[0587] 15 minutos ( $\pm$  5 minutos) pós-dose:

Coleta de sangue para soro (para PK de cabiralizumabe).

#### **4.2.1.7 FIM DO CICLO 2**

[0588] Para pacientes de Fase 1a na coorte de monoterapia, se no final do Ciclo 2 o Investigador determinar que o paciente pode se beneficiar da dosagem continuada com cabiralizumabe, pode ser oferecida a entrada no Período de Tratamento Prolongado.

[0589] Se o paciente continuar no Período de Tratamento Extendido (Ciclo 3 e adiante), deve-se preceder aos procedimentos descritos na Seção 6.2.1.8.

[0590] Se o paciente não se qualificar para receber mais doses

adicionais de cabiralizumabe, o paciente retornará à clínica para a Conclusão do Tratamento/visita de Término Antecipado descrita na Seção 6.2.1.9.

#### **4.2.1.8 TRATAMENTO PROLONGADO - CICLO 3 E CICLOS SUBSEQUENTES, DIA**

##### **1**

[0591] O tratamento prolongado de Fase 1a para pacientes em coortes de monoterapia podem começar no Ciclo 3, Dia 1 (Dia de Estudo 29). A dose será interrompida se o paciente experimentar progressão da doença ou toxicidade inaceitável.

[0592] Em cada visita de infusão, os pacientes permanecem no local de estudo após cada administração de cabiralizumabe e até a conclusão de todas as avaliações pós-dose para monitoramento de segurança. As seguintes avaliações serão realizadas em cada visita a menos que de outro modo apontado (Apêndice A):

[0593] Antes de cada infusão da droga do estudo (dentro de 72 horas a menos que estabelecido de outra forma):

[0594] Exame físico, incluindo peso.

[0595] Sinais vitais (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso).

[0596] Avaliação de estado de desempenho ECOG.

[0597] Exames laboratoriais de segurança clínica (conforme descrito no Apêndice A, nota de rodapé h; os resultados devem ser revistos antes da dosagem).

[0598] Imagem radiológica: Varreduras CT/MRI realizadas a cada 8 semanas para os primeiros 12 meses para pacientes que permanecem no tratamento (e a cada 12 semanas depois disso) e 28 dias ( $\pm$  7 dias) após a última dose de tratamento do estudo.

[0599] A coleta de biópsia (antes do Ciclo 3 somente; para análises descritas no Apêndice D).



[0600] Coleta de sangue para:

[0601] Soro (para análises descritas no Apêndice D) com as seguintes exceções:

[0602] PK de cabiralizumabe para os Ciclos 3, 5, 9, 13 e 21.

[0603] ADA de cabiralizumabe para os Ciclos 3, 5, 13 e 21.

[0604] ANA para os Ciclos 3, 5, 9, 13, 21, depois a cada 6 ciclos durante o tratamento.

[0605] CSF1 e IL34 para os Ciclos 3 e 9.

[0606] Painel multiplex de citocina para os Ciclos 3, 9 e 21.

[0607] Sangue total (para análises descritas no Apêndice D) com as seguintes exceções:

[0608] Monócitos CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup> para os Ciclos 3 e 9.

[0609] Painel MDSC para Ciclo 3 somente.

[0610] Análise de expressão gênica para os Ciclos 3, 5, 9, 13 e 21.

[0611] Relatórios de AE, se aplicável.

[0612] Revisão de medicamentos concomitantes.

[0613] Administração do medicamento do estudo: Cabiralizumabe por infusão IV durante 30 minutos.

[0614] Administração pós-Cabiralizumabe.

[0615] Sinais vitais pós-dose (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso) nos seguintes pontos no tempo após conclusão da infusão IV:

[0616] 5 MINUTOS, 15 MINUTOS, 30 MINUTOS E 1 HORA.

[0617] 15 minutos ( $\pm$  5 minutos) pós-dose:

[0618] Coleta de sangue para soro (para análises descritas no Apêndice D) com as seguintes exceções:

[0619] PK de cabiralizumabe para o Ciclo 8 somente.

**4.2.1.9      TÉRMINO DO TRATAMENTO OU VISITA DE TÉRMINO ANTECIPADO**

[0620] Os pacientes retornarão para o centro de estudo aproximadamente 28 ( $\pm$  7) dias após sua última infusão de cabiralizumabe.

[0621] As seguintes avaliações serão realizadas:

[0622] Exame físico, incluindo peso.

[0623] Sinais vitais (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso).

[0624] Avaliação de estado de desempenho ECOG.

[0625] Exames laboratoriais de segurança clínica (conforme descrito no Apêndice A, nota de rodapé h).

[0626] ECG de 12 derivações.

[0627] Imagem radiológica: A varredura CT/MRI não precisa ser repetida se realizada dentro de 8 semanas antes da Conclusão do Tratamento /Visita de Término Antecipado ou se a progressão tumoral foi anteriormente determinada.

[0628] Teste de gravidez sérico ( $\beta$ -hCG), se aplicável.

[0629] Biópsia para pacientes que progrediram (para análises descritas no Apêndice D).

[0630] Coleta de sangue.

[0631] Soro (para análises descritas no Apêndice D, excluindo análises de nivolumabe).

[0632] Sangue total (para análise de monócito CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup> e análise de expressão gênica somente).

[0633] Relatórios de AE, se aplicável.

[0634] Revisão de medicamentos concomitantes.

**4.2.2      ESCALONAMENTO DE DOSE COMBINADA DA FASE 1A****4.2.2.1      PERÍODO DE TRIAGEM (DIA -28 AO DIA 0)**

[0635] Pacientes que tenham consentimento para participação no

estudo serão submetidos a avaliações de Triagem dentro de 28 dias (4 semanas) antes da administração da primeira infusão de cabiralizumabe e nivolumabe (a menos que estabelecido de outra forma). Para determinar se o paciente preenche todos os critérios de inclusão e não viola qualquer critério de exclusão, os seguintes procedimentos serão realizados (Apêndice B):

[0636] Termo de consentimento livre e esclarecido escrito e assinado deve ser coletado antes de qualquer procedimento específico do estudo.

[0637] Histórico médico e de doenças completo.

[0638] Características demográficas e basais.

[0639] Exame físico completo, incluindo altura e peso.

[0640] Sinais vitais (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso; oximetria de pulso em repouso e após esforço).

[0641] Avaliação de estado de desempenho ECOG.

[0642] Exames laboratoriais de triagem (conforme descrito no Apêndice B, nota de rodapé g).

[0643] Exames laboratoriais de segurança clínica (conforme descrito no Apêndice B, nota de rodapé h).

[0644] ECG de 12 derivações (necessário na Triagem, e se clinicamente indicado durante o estudo).

[0645] Imagem radiológica: CT/MRI a ser realizada no prazo de 28 dias antes do Ciclo 1 Dia 1. Se a CT/MRI é realizada como parte do padrão de cuidados do paciente dentro de 28 dias do Ciclo 1 Dia 1, ela não precisa ser repetida se a documentação de resultados é fornecida e é adequada para RECIST 1.1.

[0646] Teste de gravidez no soro ( $\beta$ -hCG),  $\leq$  5 dias antes do Ciclo 1, Dia 1, para mulheres de potencial fértil.

[0647] Coleta de biópsia (para análises descritas no Apêndice D).

[0648] Relatório de SAE, se aplicável.

[0649] Documentar medicamentos anteriores e concomitantes.

**4.2.2.2 CICLO 1, DIA 1**

[0650] Os seguintes procedimentos serão realizados:

[0651] Antes da infusão de cabiralizumabe e nivolumabe (dentro de  $\leq 72$  horas a menos que estabelecido de outra forma):

[0652] Verificação da elegibilidade.

[0653] Atualização do histórico médico e de doença para capturar quaisquer alterações a partir da Triagem.

[0654] Exame físico, incluindo peso.

[0655] Sinais vitais (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso; oximetria de pulso em repouso e após esforço).

[0656] Avaliação de estado de desempenho ECOG.

[0657] Exames laboratoriais de segurança clínica (conforme descrito no Apêndice B, nota de rodapé h; os resultados devem ser revistos antes da dosagem).

[0658]  $\beta$ -hCG sérico (avaliado por laboratórios locais) será realizado  $\leq 5$  dias antes da primeira dose da droga do estudo apenas em mulheres em idade fértil .

[0659] Coleta de sangue para:

[0660] Soro (para análises descritas no Apêndice D).

[0661] Sangue total (para análises descritas no Apêndice D).

[0662] PBMC congeladas (para análise de fenótipo de células T).

[0663] Relatórios de AE, se aplicável.

[0664] Revisão de medicamentos concomitantes.

[0665] Administração do medicamento do estudo: cabiralizumabe e nivolumabe serão cada um administrados por infusão IV durante trinta minutos. O nivolumabe será administrado primeiro, com 30 minutos de repouso entre as 2 infusões, seguido por cabiralizumabe.

[0666] Após a administração de cabiralizumabe e nivolumabe:

[0667] Sinais vitais pós-dose (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso) nos seguintes pontos no tempo após conclusão de cada infusão IV:

[0668] 5 minutos e 15 minutos após a dose de nivolumabe.

[0669] 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos e 1 hora após a dose de Cabiralizumabe.

[0670] 15 minutos ( $\pm$  5 minutos) pós-dose de cabiralizumabe:

[0671] Coleta de sangue para soro (para análise PK de cabiralizumabe e nivolumabe).

[0672] 4 horas ( $\pm$  60 minutos) pós-dose de cabiralizumabe:

[0673] Coleta de sangue para soro (para PK de cabiralizumabe apenas).

#### **4.2.2.3 CICLO 1, DIA 2**

[0674] Os pacientes do estudo retornarão para o centro de estudo no Dia 2 por 24 horas de avaliações pós-dose ( $\pm$  6 horas). Nenhum tratamento será administrado durante esta visita, mas as seguintes avaliações serão concluídas:

[0675] Coleta de sangue para:

[0676] Soro (para PK de cabiralizumabe e painel multiplex de citocina).

[0677] Sangue total (para análise de expressão gênica).

[0678] Relatórios de AE, se aplicável.

[0679] Revisão de medicamentos concomitantes.

**4.2.2.4      CICLO 1, DIA 4**

[0680] Os pacientes do estudo retornarão para o centro de estudo no Dia 4 por 72 horas ( $\pm$  12 horas) de avaliações pós-dose. Nenhum tratamento será administrado durante esta visita, mas as seguintes avaliações serão concluídas:

[0681] Coleta de sangue para:

[0682] Soro (apenas para PK).

[0683] Sangue total (para monócito CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup> e análise de expressão gênica).

[0684] Relatórios de AE, se aplicável.

[0685] Revisão de medicamentos concomitantes.

**4.2.2.5      CICLO 1, DIA 8**

[0686] Os pacientes do estudo retornarão para o centro de estudo no Dia 8 por 168 horas de avaliações pós-dose ( $\pm$  24 horas). Nenhum tratamento será administrado durante esta visita, mas as seguintes avaliações serão concluídas:

[0687] Exame físico.

[0688] Sinais vitais (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso; oximetria de pulso em repouso e após esforço).

[0689] Exames laboratoriais de segurança clínica (conforme descrito no Apêndice B, nota de rodapé h).

[0690] Coleta de sangue para:

[0691] Soro (para PK de cabiralizumabe e painel multiplex de citocina).

[0692] Sangue total (para monócito CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup> e análise de expressão gênica).

[0693] PBMC congeladas (para análise de fenótipo de células T).

[0694] Relatórios de AE, se aplicável.

[0695] Revisão de medicamentos concomitantes.

#### **4.2.2.6      CICLO 2, DIA 1**

[0696] Os seguintes procedimentos serão realizados:

[0697] Antes da infusão de cabiralizumabe e nivolumabe (dentro de  $\leq 72$  horas a menos que estabelecido de outra forma):

[0698] Exame físico, incluindo peso.

[0699] Sinais vitais (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso; oximetria de pulso em repouso e após esforço).

[0700] Avaliação de estado de desempenho ECOG.

[0701] Exames laboratoriais de segurança clínica (conforme descrito no Apêndice B, nota de rodapé h; os resultados devem ser revistos antes da dosagem).

[0702] Coleta de sangue para:

[0703] Soro (para análises descritas no Apêndice D).

[0704] Sangue total (para análises descritas no Apêndice D, exceto o painel MDSC).

[0705] PBMC congeladas (para análise de fenótipo de células T).

[0706] Relatórios de AE, se aplicável.

[0707] Revisão de medicamentos concomitantes.

[0708] Administração do medicamento do estudo: cabiralizumabe e nivolumabe serão cada um administrados por infusão IV durante trinta minutos. O nivolumabe será administrado primeiro, com 30 minutos de repouso entre as 2 infusões, seguido por cabiralizumabe.

[0709] Após a administração de cabiralizumabe e nivolumabe:

[0710] Sinais vitais pós-dose (pressão sanguínea, pulso,

frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso) nos seguintes pontos no tempo após conclusão da infusão IV:

[0711] 5 minutos e 15 minutos após a dose de nivolumabe.

[0712] 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos e 1 hora após a dose de Cabiralizumabe.

[0713] 15 minutos ( $\pm$  5 minutos) pós-dose de cabiralizumabe:

[0714] Coleta de sangue para soro (para PK de cabiralizumabe apenas).

#### **4.2.2.7 FIM DO CICLO 2**

[0715] Para pacientes de Fase 1a na coorte de terapia combinada, se no final do Ciclo 2 o Investigador determinar que o paciente pode se beneficiar da dosagem continuada com cabiralizumabe e nivolumabe, pode ser oferecida a entrada no Período de Tratamento Prolongado.

[0716] Se o paciente continuar no Período de Tratamento Extendido (Ciclo 3 e adiante), deve-se preceder aos procedimentos descritos na Seção 6.2.2.8.

[0717] Se o paciente não se qualificar para receber mais doses adicionais dos medicamentos do estudo, o paciente retornará à clínica para a Conclusão do Tratamento/visita de Término Antecipado descrita na Seção 6.2.2.9.

#### **4.2.2.8 TRATAMENTO PROLONGADO - CICLO 3 E CICLOS SUBSEQUENTES, DIA**

##### **1**

[0718] O tratamento prolongado de Fase 1a para pacientes em coortes de escalonamento de dose de tratamento combinado podem começar no Ciclo 3, Dia 1 (Dia de Estudo 29).

[0719] Em cada visita de infusão, os pacientes permanecem no local de estudo após cada administração de cabiralizumabe e nivolumabe até a conclusão de todas as avaliações pós-dose para monitoramento de segurança.



As seguintes avaliações serão realizadas em cada visita a menos que de outro modo apontado (Apêndice B):

[0720] Antes de cada infusão dos medicamentos do estudo ( $\leq 72$  horas, salvo de indicado de outra forma):

[0721] Exame físico, incluindo peso.

[0722] Sinais vitais (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso; oximetria de pulso em repouso e após esforço).

[0723] Avaliação de estado de desempenho ECOG.

[0724] Exames laboratoriais de segurança clínica (conforme descrito no Apêndice B, nota de rodapé h; os resultados devem ser revistos antes da dosagem).

[0725] Imagem radiológica: Varreduras CT/MRI realizadas a cada 8 semanas para os primeiros 12 meses para pacientes que permanecem no tratamento (e a cada 12 semanas depois disso) e 28 dias ( $\pm 7$  dias) após a última dose de tratamento do estudo.

[0726] Coleta de biópsia (para análises descritas no Apêndice D).

[0727] Coleta de sangue para:

[0728] Soro (para análises descritas no Apêndice D) com as seguintes exceções:

[0729] PK de cabiralizumabe para os Ciclos 3, 5, 9, 13 e 21 apenas.

[0730] PK do Nivolumabe para os Ciclos 3, 5, 9, 13 e 21 apenas.

[0731] ADA de cabiralizumabe e nivolumabe para os Ciclos 3, 5, 13 e 21 apenas.

[0732] ANA para os Ciclos 3, 5, 9, 13, 21, depois a cada 6 ciclos durante o tratamento.

[0733] CSF1 e IL34 para os Ciclos 3 e 9 apenas.

[0734] Painel multiplex de citocina para os Ciclos 3, 9 e 21 apenas.

[0735] Sangue total (para análises descritas no Apêndice D) com as seguintes exceções:

[0736] Monócitos CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup> para os Ciclos 3 e 11 apenas.

[0737] Painel de células supressoras derivadas de mieloide para Ciclo 3 apenas.

[0738] Análise de expressão gênica para os Ciclos 3, 5, 9, 13 e 21 apenas.

[0739] Relatórios de AE, se aplicável.

[0740] Revisão de medicamentos concomitantes.

[0741] Administração do medicamento do estudo: cabiralizumabe e nivolumabe serão cada um administrados por infusão IV durante trinta minutos. O nivolumabe será administrado primeiro, com 30 minutos de repouso entre as 2 infusões, seguido por cabiralizumabe.

[0742] Após a administração de cabiralizumabe e nivolumabe:

[0743] Sinais vitais pós-dose (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso) nos seguintes pontos no tempo após conclusão da infusão IV:

[0744] 5 minutos e 15 minutos após a dose de nivolumabe.

[0745] 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos e 1 hora após a dose de Cabiralizumabe.

[0746] 15 minutos ( $\pm$  5 minutos) pós-dose de cabiralizumabe:

[0747] Coleta de sangue para soro (para análises descritas no Apêndice D) com as seguintes exceções:

[0748] PK de cabiralizumabe e nivolumabe para o Ciclo 8 apenas.

#### **4.2.2.9      TÉRMINO DO TRATAMENTO OU VISITA DE TÉRMINO ANTECIPADO**

[0749] Os pacientes retornarão para o centro de estudo

aproximadamente 28 ( $\pm$  7) dias após a sua última infusão de cabiralizumabe e nivolumabe ou no caso de um paciente descontinuar prematuramente o estudo.

[0750] As seguintes avaliações serão realizadas:

[0751] Exame físico, incluindo peso.

[0752] Sinais vitais (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso; oximetria de pulso em repouso e após esforço).

[0753] Avaliação de estado de desempenho ECOG.

[0754] Exames laboratoriais de segurança clínica (conforme descrito no Apêndice B, nota de rodapé h).

[0755] ECG de 12 derivações.

[0756] Imagem radiológica: A varredura CT/MRI não precisa ser repetida se realizada dentro de 8 semanas antes da Conclusão do Tratamento /Visita de Término Antecipado ou se a progressão tumoral foi anteriormente determinada.

[0757] Teste de gravidez sérico ( $\beta$ -hCG), se aplicável.

[0758] Biópsia para pacientes que progrediram (para análises descritas no Apêndice D).

[0759] Coleta de sangue para:

[0760] Soro (para análises descritas no Apêndice D).

[0761] Sangue total (para análise de monócito CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup> e análise de expressão gênica por sequenciamento de RNA apenas).

[0762] Relatórios de AE, se aplicável.

[0763] Revisão de medicamentos concomitantes.

#### **4.2.3 EXPANSÃO DE DOSE COMBINADA DE FASE 1B**

##### **4.2.3.1 PERÍODO DE TRIAGEM (DIA -28 AO DIA 0)**

[0764] Os pacientes que consentiram totalmente em participar do estudo serão submetidos a avaliações de Triagem dentro de 28 dias (4

semanas) antes da administração da primeira infusão de cabiralizumabe e nivolumabe (a menos que estabelecido de outra forma). Para determinar se o paciente preenche todos os critérios de inclusão e não viola qualquer critério de exclusão, os seguintes procedimentos serão realizados (Apêndice B):

[0765] Termo de consentimento livre e esclarecido escrito e assinado deve ser coletado antes de qualquer procedimento específico do estudo.

[0766] Histórico médico e de doenças completo.

[0767] Características demográficas e basais.

[0768] Exame físico completo, incluindo altura e peso.

[0769] Sinais vitais (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso; oximetria de pulso em repouso e após esforço).

[0770] Avaliação de estado de desempenho ECOG.

[0771] Exames laboratoriais de triagem (conforme descrito no Apêndice B, nota de rodapé g).

[0772] Exames laboratoriais de segurança clínica (conforme descrito no Apêndice B, nota de rodapé h).

[0773] ECG de 12 derivações (necessário na Triagem, e se clinicamente indicado durante o estudo).

[0774] Imagem radiológica: CT/MRI é para ser realizada dentro de 28 dias antes da primeira infusão da droga do estudo. Se a RM é realizada como parte do padrão de atendimento do paciente dentro de 28 dias da infusão do primeiro estudo, não será necessária a repetição do exame se a documentação dos resultados for fornecida e for adequada para RECIST 1.1.

[0775] Teste de gravidez no soro ( $\beta$ -hCG),  $\leq$  5 dias antes do Ciclo 1, Dia 1, para mulheres de potencial fértil.

[0776] Coleta de biópsia (para análises descritas no Apêndice D).

[0777] Relatório de SAE, se aplicável.

[0778] Documentar medicamentos anteriores e concomitantes.

#### **4.2.3.2      CICLO 1, DIA 1**

[0779] Os seguintes procedimentos serão realizados:

[0780] Antes da infusão de cabiralizumabe e nivolumabe (dentro de  $\leq 72$  horas a menos que estabelecido de outra forma):

[0781] Verificação da elegibilidade.

[0782] Atualização do histórico médico e de doença para capturar quaisquer alterações a partir da Triagem.

[0783] Exame físico, incluindo peso.

[0784] Sinais vitais (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso; oximetria de pulso em repouso e após esforço).

[0785] Avaliação de estado de desempenho ECOG.

[0786] Exames laboratoriais de segurança clínica (conforme descrito no Apêndice B, nota de rodapé h; os resultados devem ser revistos antes da dosagem).

[0787]  $\beta$ -hCG sérico (avaliado por laboratórios locais) será realizado  $\leq 5$  dias antes da primeira dose da droga do estudo apenas em mulheres em idade fértil.

[0788] Coleta de sangue para:

[0789] Soro (para análises descritas no Apêndice D).

[0790] Sangue total (para análises descritas no Apêndice D).

[0791] PBMC congeladas (para análise de fenótipo de células T).

[0792] Relatórios de AE, se aplicável.

[0793] Revisão de medicamentos concomitantes.

[0794] Administração do medicamento do estudo: cabiralizumabe e nivolumabe serão cada um administrados por infusão IV durante trinta

minutos. O nivolumabe será administrado primeiro, com 30 minutos de repouso entre as 2 infusões, seguido por cabiralizumabe.

[0795] Após a administração de cabiralizumabe e nivolumabe:

[0796] Sinais vitais pós-dose (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso) nos seguintes pontos no tempo após conclusão da infusão IV:

[0797] 5 minutos e 15 minutos após a dose de nivolumabe.

[0798] 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos e 1 hora após a dose de Cabiralizumabe.

[0799] 15 minutos ( $\pm$  5 minutos) pós-dose de cabiralizumabe:

[0800] Coleta de sangue para soro (para análise PK de cabiralizumabe e nivolumabe).

[0801] 4 horas ( $\pm$  60 minutos) pós-dose de cabiralizumabe:

[0802] Coleta de sangue para soro (para PK de cabiralizumabe apenas).

#### **4.2.3.3      CICLO 1, DIA 2**

[0803] Os pacientes do estudo retornarão para o centro de estudo no Dia 2 por 24 horas de avaliações pós-dose ( $\pm$  6 horas). Nenhum tratamento será administrado durante esta visita, mas as seguintes avaliações serão concluídas:

[0804] Coleta de sangue para:

[0805] Soro (para PK de cabiralizumabe e painel multiplex de citocina).

[0806] Sangue total (para análise de expressão gênica).

[0807] Relatórios de AE, se aplicável.

[0808] Revisão de medicamentos concomitantes.

#### **4.2.3.4      CICLO 1, DIA 4**

[0809] Os pacientes do estudo retornarão para o centro de estudo

no Dia 4 por 72 horas de avaliações pós-dose ( $\pm$  12 horas). Nenhum tratamento será administrado durante esta visita, mas as seguintes avaliações serão concluídas:

[0810] Coleta de sangue para:

[0811] Soro (para PK de cabiralizumabe apenas).

[0812] Sangue total (para monócito CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup> e análise de expressão gênica).

[0813] Relatórios de AE, se aplicável.

[0814] Revisão de medicamentos concomitantes.

#### **4.2.3.5      CICLO 1, DIA 8**

[0815] Os pacientes do estudo retornarão para o centro de estudo no Dia 8 por 168 horas de avaliações pós-dose ( $\pm$  24 horas). Nenhum tratamento será administrado durante esta visita, mas as seguintes avaliações serão concluídas:

[0816] Exame físico.

[0817] Sinais vitais (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso; oximetria de pulso em repouso e após esforço).

[0818] Exames laboratoriais de segurança clínica (conforme descrito no Apêndice B, nota de rodapé h).

[0819] Coleta de sangue para:

[0820] Soro (para PK de cabiralizumabe e painel multiplex de citocina).

[0821] Sangue total (para monócito CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup> e análise de expressão gênica).

[0822] PBMC congeladas (para análise de fenótipo de células T).

[0823] Relatórios de AE, se aplicável.

[0824] Revisão de medicamentos concomitantes.

**4.2.3.6      CICLO 2, DIA 1**

[0825] Os seguintes procedimentos serão realizados:

[0826] Antes da infusão de cabiralizumabe e nivolumabe (dentro de  $\leq 72$  horas a menos que estabelecido de outra forma):

[0827] Exame físico, incluindo peso.

[0828] Sinais vitais (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso; oximetria de pulso em repouso e após esforço).

[0829] Avaliação de estado de desempenho ECOG.

[0830] Exames laboratoriais de segurança clínica (conforme descrito no Apêndice B, nota de rodapé h; os resultados devem ser revistos antes da dosagem).

[0831] Coleta de sangue para:

[0832] Soro (para análises descritas no Apêndice D).

[0833] Sangue total (para análises descritas no Apêndice D, exceto o painel MDSC).

[0834] PBMC congeladas (para análise de fenótipo de células T).

[0835] Relatórios de AE, se aplicável.

[0836] Revisão de medicamentos concomitantes.

[0837] Administração do medicamento do estudo: cabiralizumabe e nivolumabe serão cada um administrados por infusão IV durante trinta minutos. O nivolumabe será administrado primeiro, com 30 minutos de repouso entre as 2 infusões, seguido por cabiralizumabe.

[0838] Após a administração de cabiralizumabe e nivolumabe:

[0839] Sinais vitais pós-dose (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso) nos seguintes pontos no tempo após conclusão da infusão IV:

[0840] 5 minutos e 15 minutos após a dose de nivolumabe.



[0841] 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos e 1 hora após a dose de Cabiralizumabe.

[0842] 15 minutos ( $\pm$  5 minutos) pós-dose de cabiralizumabe:

[0843] Coleta de sangue para soro (para PK de cabiralizumabe apenas).

#### **4.2.3.7 CICLO 3 E CICLOS SUBSEQUENTES, DIA 1**

[0844] Em cada visita de infusão, os pacientes permanecem no local de estudo após cada administração de cabiralizumabe e nivolumabe até a conclusão de todas as avaliações pós-dose para monitoramento de segurança. As seguintes avaliações serão realizadas em cada visita a menos que de outro modo apontado (Apêndice B):

[0845] Antes de cada infusão dos medicamentos do estudo ( $\leq$  72 horas, salvo de indicado de outra forma):

[0846] Exame físico, incluindo peso.

[0847] Sinais vitais (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso; oximetria de pulso em repouso e após esforço).

[0848] Avaliação de estado de desempenho ECOG.

[0849] Exames laboratoriais de segurança clínica (conforme descrito no Apêndice B, nota de rodapé h; os resultados devem ser revistos antes da dosagem).

[0850] Imagem radiológica: Varreduras CT/MRI realizadas a cada 8 semanas para os primeiros 12 meses para pacientes que permanecem no tratamento (e a cada 12 semanas depois disso) e 28 dias ( $\pm$  7 dias) após a última dose de tratamento do estudo.

[0851] Coleta de biópsia (para análises descritas no Apêndice D).

[0852] Coleta de sangue.

[0853] Soro (para análises descritas no Apêndice D) com as

seguintes exceções:

[0854] PK de cabiralizumabe para os Ciclos 3, 5, 9, 13 e 21 apenas.

[0855] PK do Nivolumabe para os Ciclos 3, 5, 9, 13 e 21 apenas.

[0856] ADA de cabiralizumabe e nivolumabe para os Ciclos 3, 5, 13 e 21 apenas.

[0857] ANA para os Ciclos 3, 5, 9, 13, 21, depois a cada 6 ciclos durante o tratamento.

[0858] CSF1 e IL34 para os Ciclos 3 e 9 apenas.

[0859] Painel multiplex de citocina para os Ciclos 3, 9 e 21 apenas.

[0860] Sangue total (para análises descritas no Apêndice D) com as seguintes exceções:

[0861] Monócitos CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup> para os Ciclos 3 e 9 apenas.

[0862] Painel MDSC para Ciclo 3 somente.

[0863] Análise de expressão gênica para os Ciclos 3, 5, 9, 13 e 21 apenas.

[0864] Relatórios de AE, se aplicável.

[0865] Revisão de medicamentos concomitantes.

[0866] Administração do medicamento do estudo: Cabiralizumabe e nivolumabe serão cada um administrados por infusão IV durante trinta minutos. O nivolumabe será administrado primeiro, com 30 minutos de repouso entre as 2 infusões, seguido por cabiralizumabe.

[0867] Após a administração de cabiralizumabe e nivolumabe:

[0868] Sinais vitais pós-dose (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso) nos seguintes pontos no tempo após conclusão da infusão IV:

[0869] 5 minutos e 15 minutos após a dose de nivolumabe.

[0870] 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos e 1 hora após a dose de Cabiralizumabe.

[0871] 15 minutos ( $\pm$  5 minutos) pós-dose de cabiralizumabe:

[0872] Coleta de sangue para soro (para análises descritas no Apêndice D) com as seguintes exceções:

[0873] PK de cabiralizumabe e nivolumabe para o Ciclo 8 apenas.

#### **4.2.3.8      TÉRMINO DO TRATAMENTO OU VISITA DE TÉRMINO ANTECIPADO**

[0874] Os pacientes retornarão para o centro de estudo aproximadamente 28 ( $\pm$  7) dias após a sua última infusão de cabiralizumabe e nivolumabe ou no caso de um paciente descontinuar prematuramente o estudo.

[0875] As seguintes avaliações serão realizadas:

[0876] Exame físico, incluindo peso.

[0877] Sinais vitais (pressão sanguínea, pulso, frequência respiratória e temperatura na posição supina após 5 minutos de repouso; oximetria de pulso em repouso e após esforço).

[0878] Avaliação de estado de desempenho ECOG.

[0879] Exames laboratoriais de segurança clínica (conforme descrito no Apêndice B, nota de rodapé h).

[0880] ECG de 12 derivações.

[0881] Imagem radiológica: A varredura CT/MRI não precisa ser repetida se realizada dentro de 8 semanas antes da Conclusão do Tratamento /Visita de Término Antecipado ou se a progressão tumoral foi anteriormente determinada.

[0882] Teste de gravidez no soro ( $\beta$ -HCG).

[0883] Biópsia opcional para pacientes que apresentaram progressão (para análises descritas no Apêndice D).

[0884] Coleta de sangue.

[0885] Soro (para análises descritas no Apêndice D).

[0886] Sangue total (para análise de monócito CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup> apenas).

[0887] Relatórios de AE, se aplicável.

[0888] Revisão de medicamentos concomitantes.

#### **4.2.4 ACOMPANHAMENTO E ACOMPANHAMENTO DE SOBREVIDA PARA TODOS OS PACIENTES**

[0889] Após a Visita de Descontinuação do Tratamento do Estudo, cada AE em andamento deve ser seguido até que o evento tenha resolvido o grau de nível basal, o evento seja avaliado pelo Investigador como estável, o paciente perca o acompanhamento, o paciente retire o consentimento ou quando tiver sido determinado que o tratamento do estudo não é a causa do AE.

[0890] A ocorrência de SAEs será coletada até 100 dias após a última dose de tratamento do estudo ou até resolvido. Posteriormente, somente SAEs determinados pelo Investigador a estarem relacionados ao tratamento do estudo serão coletados.

[0891] Além disso, o soro também será coletado 100 dias após a última dose para análise quanto a PK de cabiralizumabe, ADA de HuAB e ADA de nivolumabe.

[0892] Os pacientes que descontinuaram o tratamento de estudo por outras razões exceto progressão da doença continuarão a serem submetidos a avaliações de tumor aproximadamente a cada 8 semanas ( $\pm$  2 semanas) a partir da Visita de Descontinuação de Tratamento de Estudo até a progressão da doença.

[0893] Após a Visita de Descontinuação de Tratamento de Estudo, todos os pacientes (independente da razão para descontinuação) terão terapias anticâncer registradas e serão acompanhados quanto à sobrevida a cada 3 meses até a morte, perda de acompanhamento, retirada

do consentimento ou término do estudo pelo Patrocinador.

[0894]Para pacientes que retiram o seu consentimento do estudo, mas concordam em participar no acompanhamento de sobrevida, serão coletadas informações somente a cada 3 meses.

### **4.3 AVALIAÇÕES DO ESTUDO**

#### **4.3.1 AVALIAÇÕES DE SEGURANÇA**

[0895]Em nível basal, será obtido um histórico médico para capturar condições subjacentes relevantes. Os exames de nível basal devem incluir peso, altura, Estado de Desempenho de ECOG (Apêndice G), ECG, pressão arterial (BP), frequência cardíaca (HR), temperatura e saturação de oxigênio por oximetria de pulso em repouso (também monitorar a quantidade de oxigênio suplementar, se aplicável) dentro de 28 dias antes da primeira dose.

[0896]As avaliações de segurança incluindo hematologia de soro, química, ECOG, peso e outras avaliações incluindo ECG (se clinicamente indicado) serão feitas como parte de cuidado padrão durante cada visita antes da dosagem conforme observado nos Apêndices A, B e C. O paciente também será monitorizado quanto a quaisquer AEs durante a dosagem e conseqüentemente acompanhado com base nas orientações do protocolo. Pré-medicações incluindo esteroides, anti-histamínicos ou outros tratamentos serão dadas antes da dosagem futura se o paciente desenvolver reações à infusão conforme as orientações do protocolo.

[0897]Qualquer paciente que tenha recebido a droga do estudo será avaliado quanto à segurança. As avaliações de toxicidade serão contínuas durante a fase de tratamento e visitas de acompanhamento pessoalmente. Uma vez que os pacientes chegam na fase de acompanhamento de sobrevida, são aceitáveis chamadas telefônicas/e-mails documentados para avaliar o estado do paciente.

[0898] Os AEs e valores laboratoriais serão graduados de acordo com o NCI CTCAE v4.03.

[0899] A saturação de oxigênio por oxímetro de pulso em repouso (também monitorar a quantidade de oxigênio suplementar, se aplicável) deve ser avaliada em cada visita no estudo antes da dosagem. Se um paciente mostrar alterações na oximetria de pulso ou outros sinais relacionados ao pulmão (hipóxia, febre) ou sintomas (por exemplo, dispneia, tosse, febre) consistente com possíveis AEs pulmonares, o paciente deve ser imediatamente avaliado para descartar toxicidade pulmonar, de acordo com a funcional a tabela de gerenciamento de toxicidade pulmonar suspeita no Apêndice E.

[0900] Os exames físicos serão realizados conforme clinicamente indicado. Se houver quaisquer alterações clinicamente significativas novas ou agravantes desde o último exame, relatar as alterações nas páginas de AE ou SAE não graves apropriados.

[0901] Medidas adicionais, incluindo testes de laboratório que não necessitam de estudo, devem ser realizadas conforme clinicamente indicado ou para cumprir com os regulamentos locais. As toxicidades de laboratório (por exemplo, avaliações de enzimas do fígado induzidas por drogas suspeitas) serão monitoradas durante a fase de acompanhamento no local/ através de laboratórios até que todas as toxicidades relacionadas à droga do estudo se resolvam, retornem ao nível basal ou sejam considerados estáveis.

[0902] Algumas das avaliações citadas nesta seção podem não ser capturadas como dados no CRF. Pretende-se que elas sejam usadas como monitoramento de segurança pelo tratamento médico. Testes ou avaliações adicionais podem ser realizados conforme clinicamente necessário ou quando necessário por questões regulatórias institucionais ou locais.

### **4.3.2 AVALIAÇÕES DE EFICÁCIA**

#### **4.3.2.1 PARÂMETROS DE EFICÁCIA PRIMÁRIOS**

[0903] O parâmetro de eficácia primário é a taxa de resposta objetiva (ORR; que é o número de pacientes com resposta completa ou parcial dividido pelo número total de pacientes tratados com doença mensurável em nível basal). O estado de resposta tumoral será avaliado com o uso de RECIST v1.1 (Apêndice F). A revisão independente de avaliações de tumor pode ser solicitada a critério do Patrocinador.

#### **4.3.2.2 PARÂMETROS DE EFICÁCIA ADICIONAIS**

[0904] Os parâmetros de eficácia adicionais podem incluir o seguinte: Sobrevida Global (OS, 1 ano de OS e mediana de OS), sobrevida livre de progressão (PFS) e duração de resposta (DOR) para os pacientes com respostas confirmadas, com base no RECIST v1.1.

[0905] CT/MRI (tórax, abdome, pelve e cérebro) será realizada na Triagem, durante o tratamento e no fim do estudo/término antecipado conforme protocolo. As medições de alteração na massa tumoral devem ser revisadas e documentadas após cada medição.

#### **4.3.2.3 BIÓPSIA DO TUMOR**

[0906] A biópsia no local do tumor primário será coletada na triagem e também em 29 dias em tratamento (antes do Ciclo 3, Dia 1) para todos os pacientes de Fase 1a e 10 pacientes por coorte na Fase 1b. Os pacientes na porção de estudo de Fase 1a também terão biópsia pós- tratamento mediante progressão tumoral documentada. Esta biópsia pós- progressão será opcional para pacientes na Fase 1b. As biópsias serão avaliadas quanto a leucócitos associados com o tumor, proliferação de tumor e marcadores de morte celular.

### **4.3.3 AVALIAÇÕES FARMACOCINÉTICAS**

[0907] As amostras de sangue para a avaliação PK de ambos, cabiralizumabe e nivolumabe serão coletadas a partir de todos os pacientes

(Fase 1a e 1b).

[0908] Amostras de sangue serão coletadas para medição de concentração no soro de cabiralizumabe durante o Ciclo 1 nos Dias 1, 2, 4 e 8. Serão coletadas amostras de sangue tanto antes como no final da infusão para o Ciclo 2. Além disso, serão coletadas amostras de sangue no final da infusão para o Ciclo 8 e antes da infusão nos Ciclos 3, 5, 9, 13 e 21. Uma amostra de sangue também será coletada para análise PK 100 dias após a última dose e na Conclusão do Tratamento/visita de Término Antecipado.

[0909] Os pacientes cadastrados no escalonamento de dose de Fase 1a e Fase 1b terão amostras de sangue para medição de concentração de nivolumabe no tanto antes como no final da infusão para Ciclo 1. Além disso, serão coletadas amostras de sangue antes da infusão dos Ciclos 2, 3, 5, 9, 13 e 21. Uma amostra de sangue também será coletada para análise PK 100 dias após a última dose e na Conclusão do Tratamento/visita de Término Antecipado.

[0910] Os parâmetros de PK padrão serão determinados com base nos dados de concentração-tempo de cabiralizumabe no soro, conforme apropriado. O potencial de interação farmacocinética droga-droga entre cabiralizumabe e nivolumabe será avaliado.

#### **4.3.3.1 COLETA E PROCESSAMENTO DE FARMACOCINÉTICA**

[0911] Serão coletadas amostras de sangue e processadas para soro de acordo com as instruções fornecidas em um Manual de Laboratório separado.

#### **4.3.3.2 ANÁLISE DA AMOSTRA PARA FARMACOCINÉTICA**

[0912] A concentração de cabiralizumabe no soro será determinada no soro com o uso de um método ELISA validado. A concentração de nivolumabe no soro será determinada no soro com o uso de um método ECLA validado.



#### **4.3.4 AVALIAÇÕES DE IMUNOGENICIDADE**

[0913] Serão coletadas amostras de sangue antes da infusão nos Ciclos 1, 2, 3, 5, 13 e 21, em 100 dias após a última dose e na Conclusão do Tratamento/visita de Término Antecipado para medir ADA para cabiralizumabe e nivolumabe. ADA para cabiralizumabe no soro será medido por uma ligação de ECLA validado que utiliza tecnologia *Meso Scale Discovery* (MSD). ADA para nivolumabe no soro será medido por um método ECLA validado.

#### **4.3.5 AVALIAÇÕES DE BIOMARCADORES**

[0914] Uma variedade de fatores que poderiam potencialmente prever resposta clínica à combinação de cabiralizumabe e nivolumabe será investigada em todo sangue periférico e nas amostras tumorais todas as amostras de tumor de pacientes antes e durante tratamento. Os dados a partir destas investigações serão avaliados quanto a associações com resposta e/ou dados de segurança (AE). Além disso, análises de marcadores entre os braços de tratamento fornecerão os dados necessários para identificar e validar biomarcadores com valor preditivo versus prognóstico. As instruções completas sobre a coleta, processamento, manipulação e transferência de todas as amostras descritas no presente pedido serão fornecidas em um Manual de Biomarcador.

##### **4.3.5.1 ESPÉCIMES DE TECIDO TUMORAL**

[0915] As amostras de tecido tumoral sob a forma de um bloco emblocado em parafina ou lâminas não coradas serão submetidas à avaliação central por IHQ. Estas amostras de biópsia devem ser excisional, incisional ou de agulha grossa como aspiração por agulha fina ou outras amostras citológicas são insuficientes para análises de biomarcadores a jusante. As amostras de tecido estão sendo coletado para avaliar o efeito PD de drogas de estudo no microambiente tumoral. Estas amostras também podem ser submetidas ao sequenciamento genético para determinar o efeito de drogas de

estudo nas vias no gene, bem como assinaturas gênicas identificadas associadas com resistência à resposta. Estas análises podem ajudar a prever resposta futura ao tratamento. Um resumo das análises a serem realizadas é descrito no Apêndice D.

[0916] As amostras de biópsia tumoral serão obtidas antes do tratamento, bem como durante o tratamento, para examinar infiltrados imunes e expressão de marcadores tumorais selecionados. O tecido tumoral que é obtido a partir dessas amostras será dividido conforme apropriado entre uma amostra fresca congelada a ser usada para análise de expressão gênica, e uma amostra fixada em formalina a ser usada para IHQ.

[0917] Cortes de tecido corado serão enviados ao laboratório central, onde serão avaliados por um patologista e pontuados quanto à positividade para PD-L1.

[0918] As amostras podem ser avaliadas para a expressão de genes imunes ou relacionados à doença, RNAs e/ou proteínas, bem como à presença de populações de células imunes com o uso de uma variedade de metodologias incluindo, mas não se limitado a IHQ, qRT-PCR, detecção de mutação genética e hibridização fluorescente *in situ* (FISH). Outros métodos de expressão de biomarcador tumoral estão sendo avaliados.

#### **4.3.5.2 SORO**

[0919] As amostras de sangue para análise exploratória de biomarcador no soro serão tiradas nos pontos no tempo indicados na Programação de Avaliações (Apêndices A, B e C). As amostras de sangue serão processadas para coleta de soro e, em seguida, colocar em armazenamento congelado antes da análise. Em adição às análises PK e ADA mencionadas acima, amostras de soro serão analisadas para determinar o efeito PD de drogas de estudo em concentrações de citocina e ligante CSF1R. As amostras podem ser avaliadas por ELISA, seromics e/ou outros métodos de

ensaio de proteínas multiplexadas. Análises de marcador no soro também podem ajudar a estabelecer uma assinatura de biomarcador que pode prever benefício ou correlacionar com a eficácia que pode ser usada para informar este e futuros estudos. Os tempos de coleta de amostra são listados no Apêndice C e as análises a serem realizadas são descritas no Apêndice D.

#### **4.3.5.3 SANGUE TOTAL PARA AVALIAÇÃO DE POLIMORFISMO DE NUCLEOTÍDEO ÚNICO (SNP)**

[0920] As amostras de sangue total para avaliação farmacogenética exploratória serão coletadas a partir de todos os pacientes e colocadas em armazenamento congelado antes da análise. O DNA genômico será extraído e subsequentemente avaliado para um polimorfismo de nucleotídeo único e outras variações genéticas em genes candidatos que podem predispor pacientes para benefício ou AEs. O uso adicional desses dados pode incluir análises correlativas com o objetivo de identificar associações genotípicas com biomarcadores clinicamente relevantes identificados por outras metodologias descritas nesta seção.

#### **4.3.5.4 CITOMETRIA DE FLUXO**

[0921] Amostras pré-tratamento e em tratamento serão analisadas por citometria de fluxo para estudo dos efeitos de cabiralizumabe e nivolumabe em vários subconjuntos de células imunológicas do sangue periférico. As amostras de sangue total serão avaliadas para confirmar o efeito PD previsto de cabiralizumabe na redução de monócitos CD16<sup>+</sup>. As amostras de PBMC serão analisadas para determinar se o bloqueio da PD-1 combinado com direcionamento de CSF1R terão impacto na ativação e função de células T periféricas. As amostras de PBMC podem ser avaliadas quanto aos níveis de células supressoras derivadas de mieloide e quanto a fenótipo de monócito. Os tempos de coleta de amostra são listados no Apêndice C e as análises a serem realizadas são descritas no Apêndice D.

#### **4.3.5.5 PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA**

[0922] Alterações no padrão de expressão gênica em amostras tumorais serão avaliadas, com o uso de sequenciamento de RNA e qPCR, com ênfase nas vias de função imune. Todas as amostras coletadas serão armazenadas e podem ser usadas para subsequente pesquisa relevante para resposta imune do tumor.

### **5 CONSIDERAÇÕES ESTATÍSTICAS**

[0923] As análises serão descritivas e serão apresentadas por grupo de dose e, em geral, conforme apropriado. Os dados coletados neste estudo serão apresentados usando tabelas de resumo e listagem de dados do paciente. As variáveis contínuas serão resumidas usando estatísticas descritivas, especificamente a média, mediana, desvio padrão, mínimo e máximo. Variáveis categóricas serão resumidas por frequências e porcentagens.

#### **5.1 DETERMINAÇÃO DO TAMANHO DA AMOSTRA**

[0924] Aproximadamente 30 pacientes serão cadastrados na fase 1a (dose de escalonamento); espera-se tratar entre 3 e 6 pacientes em cada coorte de escalonamento de dose de acordo com o algoritmo descrito na Figura 6. A tabela 5 resume a probabilidade de escalar para a próxima coorte de dose para várias taxas DLT verdadeiras.

**TABELA 5**

#### **PROBABILIDADE DE ESCALONAMENTO DE DOSE E TOXICIDADES DOSE-LIMITANTES**

	Taxa DLT verdadeira				
	1%	5%	10%	30%	50%
<b>Probabilidade de escalonamento de dose</b>	0,999	0,973	0,906	0,494	0,172

[0925] Taxa de Resposta Objetiva é a variável de eficácia primária para a porção de Fase 1b do estudo. Com aproximadamente 30 pacientes em cada tipo de doença, o intervalo de confiança de 95% de meia largura para a

correspondente taxa de resposta estaria dentro de 18%.

## **5.2 POPULAÇÕES PARA ANÁLISES**

[0926] Toda População Recrutada: Todos os pacientes que assinaram o ICF e foram registrados no IXRS.

[0927] População de Segurança: Todos os pacientes que receberam pelo menos uma dose de cabiralizumabe e/ou nivolumabe.

[0928] População de PK: Todos os pacientes que receberam pelo menos uma dose de cabiralizumabe e têm dados de concentração no soro avaliáveis para a determinação de perfil de PK. Todos os pacientes que receberam pelo menos uma dose de nivolumabe, cujo perfil de PK de pico e de vale serão determinados.

[0929] Pacientes de Biomarcadores: Todos os pacientes que receberam pelo menos uma dose de cabiralizumabe e/ou nivolumabe e têm dados de biomarcadores disponíveis.

[0930] Pacientes de Imunogenicidade: Todos os pacientes que receberam pelo menos uma dose de cabiralizumabe e/ou nivolumabe e têm dados de ADA disponíveis.

## **5.3 DESFECHOS**

### **5.3.1 DESFECHOS DA FASE 1A**

#### **5.3.1.1 PRIMÁRIO**

[0931] Segurança.

[0932] A incidência de AEs de Grau 3 e Grau 4 e de anormalidades laboratoriais clínicas definidas como DLTs.

[0933] A incidência de AEs, anormalidades laboratoriais clínicas e anormalidades de ECG.

#### **5.3.1.2 SECUNDÁRIO**

[0934] Farmacocinética.

[0935] Os seguintes parâmetros PK serão derivados de dados de

concentração-tempo para cabiralizumabe quando apropriado e aplicável. Outros parâmetros, como a dependência de dose e razão de acúmulo, também podem ser calculados. O potencial de interação farmacocinética droga-droga entre cabiralizumabe e nivolumabe será avaliado conforme apropriado.

[0936] Área abaixo da curva de concentração-tempo (AUC).

[0937] Concentração de soro máxima ( $C_{\text{máx}}$ ).

[0938] Concentração de soro mínima ( $C_{\text{mín}}$ ).

[0939] Volume de distribuição em estado estacionário ( $V_{\text{ss}}$ ).

[0940] O perfil PK de concentração de pico e mínimo será derivado a partir de dados de concentração de soro de nivolumabe quando apropriado e aplicável.

[0941] Imunogenicidade .

[0942] Imunogenicidade, definida como uma resposta imune tanto para cabiralizumabe como nivolumabe, será avaliada por medição do total de anticorpos anti-Cabiralizumabe e do total de anticorpos anti-nivolumabe de todos os pacientes. Testes de imunogenicidade consistirão de triagem, confirmação e titulação para ambos cabiralizumabe e nivolumabe.

[0943] Biomarcadores farmacodinâmicos.

[0944] Alterações nos subconjuntos de monócitos no sangue total por citometria de fluxo.

[0945] Alterações em análise multiplex de níveis de citocina.

[0946] Níveis de expressão de biomarcador em amostras de biópsia de tumor conforme medido por IHQ.

#### **5.3.1.3      EXPLORATÓRIO**

[0947] Biomarcadores farmacodinâmicos.

[0948] Alterações em níveis séricos de marcadores selecionados.

[0949] Alterações em células T periféricas e outros fenótipos de leucócitos por citometria de fluxo.

[0950] Níveis de MDSC periférico por citometria de fluxo.

[0951] Alterações em expressão gênica em sangue total ou PBMC.

### **5.3.2 DESFECHOS DA FASE 1**

#### **5.3.2.1 PRIMÁRIO**

[0952] Eficácia.

[0953] A taxa de resposta objetiva (ORR) será definida como o número total de pacientes com respostas confirmadas tanto de CR como PR dividida pelo número total de resposta – pacientes avaliáveis.

[0954] Segurança.

[0955] A incidência de AEs, SAEs, anormalidades laboratoriais clínicas e anormalidades de ECG.

[0956] A incidência de descontinuações, modificações, interrupções do tratamento devido a eventos adversos.

[0957] AEs de Grau 3 e Grau 4 e anormalidades laboratoriais.

#### **5.3.2.2 SECUNDÁRIO**

[0958] Farmacocinética.

[0959] Os seguintes parâmetros PK serão derivados de dados de concentração-tempo para cabiralizumabe quando apropriado e aplicável. Outros parâmetros, como a dependência de dose e razão de acúmulo, também podem ser calculados. O potencial de interação farmacocinética droga-droga entre cabiralizumabe e nivolumabe será avaliado conforme apropriado.

[0960] Área abaixo da curva de concentração-tempo (AUC).

[0961] Concentração de soro máxima ( $C_{\text{máx}}$ ).

[0962] Concentração de soro mínima ( $C_{\text{mín}}$ ).

[0963] Volume de distribuição em estado estacionário ( $V_{\text{ss}}$ ).

[0964] O perfil PK de concentração de pico e mínimo será derivado a partir de dados de concentração de soro de nivolumabe quando

apropriado e aplicável.

[1000] Imunogenicidade.

[1001] Imunogenicidade, definida como uma resposta imune tanto para cabiralizumabe como nivolumabe, será avaliada por medição do total de anticorpos anti-Cabiralizumabe e do total de anticorpos anti-nivolumabe de todos os pacientes. Testes de imunogenicidade consistirão de triagem, confirmação e titulação para ambos cabiralizumabe e nivolumabe.

[1002] Biomarcadores farmacodinâmicos.

[1003] Alterações nos subconjuntos de monócitos no sangue total por citometria de fluxo.

[1004] Alterações em análise multiplex de níveis de citocina.

[1005] Níveis de expressão de biomarcador em amostras de biópsia de tumor conforme medido por IHQ.

[1006] Eficácia.

[1007] Sobrevida Global (OS) será definida como o tempo entre a primeira dose de droga do estudo e a morte.

[1008] OS em um ano.

[1009] Mediana da OS.

[1010] Duração de resposta (DOR) será definida como o tempo de resposta (CR ou PR) até o princípio de PD que é subsequentemente confirmado.

[1011] A sobrevida livre de progressão (PFS) será definida para cada paciente como o tempo partir da primeira dose até a primeira observação de progressão da doença ou morte devido a qualquer causa.

#### **5.3.2.3 EXPLORATÓRIO**

[1012] Biomarcadores farmacodinâmicos.

[1013] Alterações em níveis séricos de marcadores selecionados.

[1014] Alterações em células T periféricas e outros fenótipos de



leucócitos por citometria de fluxo.

[1015] Níveis de MDSC periférico por citometria de fluxo.

[1016] Alterações em expressão gênica em sangue total ou PBMC.

## **5.4 ANÁLISES**

### **5.4.1 CARACTERÍSTICAS BASAIS E DEMOGRÁFICAS**

[1017] Os dados demográficos, histórico médico, outras características basais, doença concomitante e medicação concomitante serão resumidos por coorte e em geral. Para determinar se os critérios de conduta do estudo são atendidos, serão fornecidas tabelas e listas correspondentes. Estes incluirão uma avaliação dos desvios de protocolo, análise da contabilidade de medicamento e outros dados que podem afetar a conduta geral do estudo.

### **5.4.2 ANÁLISES DE EFICÁCIA**

[1018] Para cada tipo de doença, a resposta ao tratamento será resumida por ORR, definida como a razão do número de pacientes que obtiveram uma resposta objetiva para o número de pacientes cadastrados. O intervalo de confiança exato será construído para a taxa de resposta. Sobrevida Total, sobrevida em 1 ano e mediana de sobrevida serão estimados pelo método de Kaplan-Meier. O correspondente intervalo de confiança também será apresentado.

### **5.4.3 ANÁLISES DE SEGURANÇA**

[1019] As análises de segurança serão realizadas para pacientes incluídos na população de segurança. AEs, informações clínicas de laboratório, sinais vitais, ECOG estado de desempenho, peso e ECGs serão tabulados e resumidos.

[1020] AEs serão resumidos totais e com resumos separados de SAEs, AEs que levam à descontinuação, AEs que levam à morte e NIC-CTCAE versão 4.03 Grau 3 ou AEs maiores.

[1021] O peso e os sinais vitais serão resumidos de forma descritiva (n, média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo). A Capacidade Funcional ECOG será resumida de forma categórica e descritiva.

[1022] Serão fornecidas tabelas de mudanças que exibem contagens de pacientes e as percentagens classificadas por grau basal e grau máximo no tratamento para dados laboratoriais por coorte e geral. Uma alteração laboratorial marcada é definida como uma alteração de um Grau 0 basal até Grau 3 (não hematológico) ou Grau 4 (hematológico) no tratamento, ou uma alteração de um Grau 1 basal ao Grau 4 no tratamento. O número e porcentagem de pacientes com alterações laboratoriais notáveis serão tabulados por coorte e geral.

#### **5.4.4 ANÁLISES FARMACOCINÉTICAS**

[1023] As concentrações no soro individuais e médias de cabiralizumabe e nivolumabe versus dados no tempo serão plotadas pelo nível de dose. Os resumos estatísticos serão tabulados para a concentração sérica – dados de tempo e parâmetros PK estimados de cabiralizumabe, conforme apropriado. O potencial de interação PK droga-droga entre cabiralizumabe e nivolumabe será avaliado.

[1024] Para o cabiralizumabe, parâmetros PK incluindo  $C_{máx}$ , AUC,  $C_{mín}$ , CL, e  $V_{ss}$  serão estimados. Outros parâmetros PK, bem como a variabilidade entre pacientes, acúmulo de cabiralizumabe e proporcionalidade de dose serão avaliados quando os dados estiverem disponíveis. Dados de PK (Cabiralizumabe e/ou nivolumabe) coletados a partir deste estudo podem ser usados em combinação com outros estudos para exposição-resposta ou modelagem PK da população, que será parte de um relatório separado.

#### **5.4.5 IMUNOGENICIDADE**

[1025] Será fornecido uma lista de todos os dados de imunogenicidade disponíveis para ambos cabiralizumabe e nivolumabe.

Adicionalmente, uma lista de dados de imunogenicidade destes pacientes com pelo menos um ADA positivo em qualquer ponto no tempo será fornecida por nível de dose. A frequência de pacientes com pelo menos uma avaliação de ADA positivo e a frequência de pacientes que desenvolvem ADA após uma avaliação de nível basal negativa serão fornecidas por dose. Para analisar a relação potencial entre imunogenicidade e segurança, a frequência e tipo de AEs de interesse especial podem ser examinados por estado de imunogenicidade total. Associações entre concentrações de pré-dose de cabiralizumabe ou nivolumabe e correspondentes avaliações de ADA podem ser exploradas.

#### **5.4.6 ANÁLISES DE BIOMARCADORES**

[1026] Para avaliar os efeitos de PD de cabiralizumabe e nivolumabe sobre vários biomarcadores exploratórios (como fatores solúveis, subconjuntos de células imune do sangue periférico e outros marcadores conforme avaliado por IHC) serão tabuadas estatísticas de resumo para esses marcadores e suas alterações (ou alterações percentuais) a partir do nível basal por visita e dose. Além disso, a evolução temporal de desfechos de biomarcadores exploratórios será investigada graficamente, por gráficos de resumo ou gráficos de pacientes individuais ao longo do tempo. Os padrões de alteração nestes valores de biomarcadores ao longo do tempo e como os padrões se diferenciam entre os níveis de dose podem ser adicionalmente investigados com o uso de modelagem apropriada, por exemplo, por modelos de efeitos lineares mistos.

[1027] Possíveis associações de medidas de biomarcadores com medidas de eficácia clínica incluindo OS serão investigadas com base na disponibilidade de dados. Os métodos como, mas não se limitando a, regressão logística podem ser usados para investigar mais dessas associações.

[1028] Se, no momento do bloqueio do banco de dados para os desfechos primários e secundários, os dados do biomarcador relacionados a objetivos exploratórios não estiverem disponíveis, estes resultados de análises de biomarcadores não podem ser incluídos no CSR, mas relatados separadamente.

#### **EXPRESSÃO DE MARCADOR SÉRICO SELECIONADO**

[1029] As análises de expressão são de natureza descritiva e se destinam a examinar a distribuição de expressão e avaliar associações potenciais entre expressão e medidas de eficácia. Se houver uma indicação de uma associação significativa, o trabalho futuro avaliará expressão como um biomarcador preditivo, incluindo seleção de um corte de expressão ótimo para classificar pacientes como positivos ou negativos. Seleção e validação de corte serão conduzidos através de estudos e relatados fora de CSRs individuais. Adicionalmente, as análises detalhadas abaixo podem ser relatadas fora do CSR, a fim de garantir a integridade de quaisquer análises de validação potencial com o uso de dados deste estudo.

[1030] As seguintes análises serão realizadas:

[1031] Listagem de dados de biomarcadores selecionados.

[1032] Resumo de aquisição e características do espécime de tumor.

[1033] Resumo de estatísticas de expressão por subgrupos selecionados e total.

[1034] Gráfico de caixa (*box plot*) de expressão por grupo de tratamento e total.

[1035] Curvas de OS para cada grupo de tratamento serão estimadas com o uso do método produto-limite Kaplan-Meier (KM) para cada subgrupo de Quartil de Expressão e para o subgrupo de pacientes com um resultado IHQ desconhecido ou indeterminado. Quartis de expressão serão

definidos com base na população total. 95% de intervalos de confiança, bilaterais para a mediana OS serão calculados pelo método Brookmeyer e Crowley.

[1036] Curvas de PFS determinadas pelo investigador para cada grupo de tratamento serão estimadas com o uso do método produto-limite KM para cada subgrupo de Quartil de Expressão e para o subgrupo de pacientes com um resultado IHQ desconhecido ou indeterminado. Quartis de expressão serão definidos com base na população total. 95% de intervalos de confiança, bilaterais para a mediana de PFS serão calculados pelo método Brookmeyer e Crowley.

[1037] As ORRs determinadas pelo investigador serão computadas por grupo de tratamento junto com exatos 95% de CIs com o uso do método Clopper-Pearson para cada subgrupo de Quartil de Expressão e para o subgrupo de pacientes com um resultado de expressão desconhecido ou indeterminado. Quartis de expressão serão definidos com base na população total. As razões de chance associadas e 95% de CIs serão calculados.

[1038] Gráficos de caixa de expressão versus Estado de Resposta por grupo de tratamento.

[1039] Gráfico de expressão de distribuição cumulativa *versus* percentil de população por grupo de tratamento e total.

[1040] Gráficos em cascata de expressão individual por grupo de tratamento.

[1041] Gráficos em floresta de OS e Taxa de Risco PFS com CIs 95% para cada subgrupo de Quartil de Expressão e para o subgrupo de pacientes com um resultado IHQ desconhecido ou indeterminado. Quartis de Expressão serão definidos com base na população total.

## **5.5 ANÁLISE INTERINA**

[1042] Nenhuma análise preliminar está formalmente prevista.

[1043] O Patrocinador (e/ou encarregado) e Investigador(es) irão

rever os dados de segurança de cada coorte de dose antes do escalonamento ou descalonamento da dose. Além disso, um resumo de dados intermediários pode ser realizado em vários momentos antes da conclusão do estudo a fim de facilitar decisões do programa e para apresentações ou publicações de suporte.

### **LISTA DE ABREVIACÕES**

<b>Termo</b>	<b>Definição</b>
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
ADA	Anticorpo antifármaco/antidroga
AE	Evento Adverso
ALT	Alanina aminotransferase
ANA	Anticorpo antinuclear
ANC	Contagem absoluta de neutrófilos
AST	Aspartato aminotransferase
AT	Aminotransferases
AUC	Área sob a curva de concentração-tempo
AUC(INF)	Área sob a curva da concentração-tempo a partir do tempo zero extrapolado para tempo infinito
□-HCG	Gonadotrofina coriônica beta-humana
BID	<i>Bis em die</i> ; duas vezes por dia
BMI	Índice de massa corporal
BMS	Bristol-Myers Squibb
BP	Pressão sanguínea
BTLA	Atenuador de linfócitos B e T
BUN	Nitrogênio ureico no sangue
°C	Graus Celsius
CBC	Hemograma Completo
CD	Agrupamento de diferenciação
CFR	Código de Regulamentos Federais
CHO	Ovário de hamster chinês
CI	Intervalo de confiança
CK	Creatinina quinase
CL	Depuração / <i>Clearance</i>
C <sub>max</sub> , C <sub>MAX</sub>	Concentração máxima observada
C <sub>min</sub> , C <sub>MIN</sub>	Concentração mínima observada
CMV	Citomegalovírus
SNC	Sistema nervoso central
CR	Resposta completa
CRC	Câncer colorretal
CRF	Formulário de relatório de caso, que pode ser em papel ou eletrônico.
CRO	Organização de pesquisa contratada

<b>Termo</b>	<b>Definição</b>
CRP	Proteína C reativa
CSF1	Fator 1 estimulador de colônias
CSF1R	Receptor de fator 1 estimulador de colônias
CSR	Relatório de estudo clínico
CT	Tomografia computadorizada
CTA	Acordo de ensaios clínicos
CTCAE v4.03	Crítérios de Terminologia Comum para Eventos Adversos, versão 4.03
CTLA-4	Antígeno 4 de linfócitos T citotóxicos
C <sub>trough</sub>	Concentração plasmática mínima observada
CTX	Peptídeos reticulantes de colágeno C-terminal
CV	Coeficiente de variação
DC	Célula dendrítica
DEHP	Di-(2-etilhexil)ftalato
DILI	lesão no fígado induzida por droga
dL	Decilitro
DLT	Toxicidade Limitante da Dose
DMARD	Droga antirreumática modificadora de doença
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DOR	Duração de resposta
EC <sub>50</sub>	Metade da concentração máxima eficaz
ECG	eletrocardiograma
ECLA	Ensaio de eletroquimioluminescência
ECM	Matriz extracelular
ECOG	Grupo Cooperativo de Oncologia do Leste (ECOG; <i>Eastern Cooperative Oncology Group</i> )
eCRF	Formulário de relatório de caso eletrônico
EDC	Captura de dados eletrônica
e.g.	<i>exempli gratia</i> (por exemplo)
ELISA	Ensaio imunoabsorvente enzima-associado
ePPND	Desenvolvimento pré e pós-natal melhorado
ESR	Taxa de sedimentação de eritrócito
°F	Graus Fahrenheit
FACS	Separador de células ativadas por fluorescência
Fc	Fragmento cristalizável
FDA	Administração Federal de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos; (FDA; <i>Food and Drug Administration</i> )
FFPE	Fixado com formalina, embocado em parafina
FISH	Hibridização <i>in situ</i> fluorescente
FivePrime	Five Prime Therapeutics, Inc.
FSH	Hormônio folículo estimulante
g	Grama
GBM	Glioblastoma multiforme
GCP	Boas Práticas Clínicas

<b>Termo</b>	<b>Definição</b>
GI	Gastrointestinal
h	Hora
HBcAg	Antígeno central ( <i>core</i> ) da Hepatite B
HBsAg	Antígeno de superfície de Hepatite B
HBV	Vírus da hepatite B
HCV	Vírus da hepatite C
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HR	Frequência cardíaca
HRP	Peroxidase de rábano silvestre
HRT	Terapia de substituição hormonal
BI	Brochura do investigador
IC <sub>50</sub>	Metade da concentração máxima inibitória
ICD	Desfibrilador cardioversor implantável
ICF	Formulário de consentimento informado
ICH	Conferência Internacional sobre Harmonização
ICOS	Coestimulador induzível
ID	Doença infecciosa
i.e.	<i>id est</i> (isto é)
IEC	Comitê de ética independente
IFN	Interferon
IgG	Imunoglobulina G
IHQ	Imuno-histoquímica
IL	Interleucina
IM	Intramuscular
IMP	Produto medicinal de investigação
IND	Nova droga investigacional
INR	Razão normalizada internacional
I-O	Imuno-oncologia
irAE	Evento adverso imune-relacionado
IRB	Conselho de revisão institucional
ITIM	Imunorreceptor com motivo inibitório em tirosina
ITSM	Imunorreceptor com motivo de troca baseado em tirosina
IU	Unidade internacional
IV	Intravenoso
IXRS	Sistema de voz integrada e de resposta web
kg	Quilograma
KM	Kaplan-Meier
LAG-3	Gene 3 de ativação de linfócito
LDH	Lactato desidrogenase
LFT	Teste de função hepática
LLOQ	Limite inferior de quantificação
MABEL	Nível de efeito biológico mínimo antecipado
mCRPC	Câncer de próstata metastático resistente à castração



<b>Termo</b>	<b>Definição</b>
MDSC	Célula supressora derivada de mieloide
mg	Miligrama
min	Minuto
μL	Microlitro
mL	Millilitro
MLR	Reação mista de linfócitos
μM	Micrômetro
mM	Milimolar
mm <sup>3</sup>	Milímetros cúbicos
mmHg	milímetros de mercúrio
MRI	Formação de imagens de ressonância magnética
MSD	Meso Scale Discovery
MSS	Microssatélites estáveis
MTD	Dose máxima tolerada
N	Número de pacientes ou observações
NCA	Análise não compartimental
NCI	National Cancer Institute
ng	Nanograma
NOAEL	Nenhum nível de efeito adverso observável
NSCLC	Câncer de pulmão de células não pequenas
NYHA	<i>New York Heart Association</i>
NSAID	Droga anti-inflamatória não esteroide
ORR	Taxa de resposta objetiva
OS	Sobrevida global
PBMC	Célula mononuclear do sangue periférico
PD	Farmacodinâmica
PD-1	Morte Programada 1
PDAC	Adenocarcinoma ductal pancreático
PD-L1	Ligante 1 de morte programada 1
PD-L2	Ligante 2 de morte programada 1
PFS	Sobrevida livre de progressão
PK	Farmacocinética
PO	<i>Per os</i> ; pela boca (por via oral)
PPK	Farmacocinéticas da população
PR	Resposta parcial
PT	Tempo de protrombina
PTT (aPTT)	Tempo de tromboplastina parcial
PVC	Cloreto de polivinila
q2w	A cada duas semanas
qPCR	Reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real
qRT-PCR	Reação em cadeia da polimerase por transcrição reversa quantitativa
QTcF	Fórmula de correção de Fridericia para intervalo QT
RBC	Glóbulo vermelho (hemácia)

<b>Termo</b>	<b>Definição</b>
RCC	Carcinoma de célula renal
RD	Dose recomendada
RECIST v1.1	Critérios de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos, versão 1.1
RNA	Ácido ribonucleico
SAE	Evento adverso grave
SAP	Plano de análise estatística
SCCHN	Carcinoma de células escamosas da cabeça e pescoço
SD	Doença estável
SkTnl	Troponina esquelética
SOP	Procedimento operacional padrão
T <sub>3</sub>	Tri-iodotironina
T <sub>4</sub>	Tiroxina
TAM	Macrófago associado ao tumor
TB	Tuberculose
TCR	Receptor de células T
TIL	Linfócitos infiltrantes de tumor
T <sub>max</sub> , TMAX	Tempo de concentração máxima observada
TNF	Fator de necrose tumoral
Trap5b	Fosfatases ácidas resistentes ao tartarato 5b
LSN	Limite superior de normalidade
USP	Farmacopeia Americana
V <sub>ss</sub>	Volume de distribuição em estado estacionário (V <sub>ss</sub> ).
V <sub>z</sub>	Volume de distribuição de fase terminal (se IV e se declínio multi-exponencial)
WBC	Glóbulo branco (leucócito)
OMS	Organização Mundial de Saúde
WOCP	Mulheres de potencial fértil

## **6. REFERÊNCIAS**

Ansari MJ, Salama AD, Chitnis T, Smith RN, Yagita H, Akiba H, *et al.* *The programmed death-1 (PD-1) pathway regulates autoimmune diabetes in nonobese diabetic (NOD) mice.* *J Exp Med.* 2003;198(1):63-9.

Blazar BR, Carreno BM, Panoskaltsis-Mortari A, Carter L, Iwai Y, Yagita H, *et al.* *Blockade of programmed death-1 engagement accelerates graft-versus-host disease lethality by an IFN- $\alpha$ -dependent mechanism.* *J Immunol.* 2003;171:1272-7.

Carter LL, Fouser LA, Jussif J, Fitz L, Deng B, Wood CR, *et al.* *PD-1:PD-L inhibitory pathway affects both CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells and is*

overcome by IL-2. *Eur J Immunol.* 2002;32(3):634-43.

Cassier P, Gomez-Roca C, Italiano A, Cannarile M, Ries C, Brillouet A, et al. *Phase 1 study of RG7155, a novel anti-CSF1R antibody, in patients with locally advanced pigmented villonodular synovitis (PVNS).* *J Clin Oncol suppl.* 2014;32:5 resumo 10504.

Chemnitz JM, Parry RV, Nichols KE, June CH, Riley JL. *SHP-1 and SHP-2 associate with immunoreceptor tyrosine-based switch motif of programmed death 1 upon primary human T cell stimulation, but only receptor ligation prevents T cell activation.* *J Immunol.* 2004;173:945-54.

Dai X, Ryan G, Hapel A, Dominguez M, Russell R, Kapp S, et al. *Targeted disruption of the mouse colony-stimulating factor 1 receptor gene results in osteopetrosis, mononuclear phagocyte deficiency, increased primitive progenitor cell frequencies, and reproductive defects.* *Blood.* 2002;99:111–20.

Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. *Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape.* *Nat Immunol.* 2002;3:991-8.

Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H, et al. *Engagement of the PD 1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation.* *J Exp Med.* 2000;192(7):1027-34.

Gabbay MB, Thomas J, Gibbs A, Hold P. *A randomized crossover trial of the impact of additional spermicide on condom failure rates.* *Sex Transm Dis.* 2008;35:862-8.

Greenwald RJ, Freeman GH, Sharpe AH. *The B7 family revisited.* *Annu Rev Immunol.* 2004;23:515-48.

Habicht A, Dada S, Jurewicz M, Fife BT, Yagita H, Azuma M, et al. *A link between PDL1 and T regulatory cells in fetomaternal tolerance.* *J Immunol.* 2007;179:5211-9.

Hamilton J, Achuthan A. *Colony stimulating factors and myeloid cell biology in health and disease. Trends in Immunology*, 2013;34:81-89.

Kaufmann DE, Walker BD. Programmed death-1 as a factor in immune exhaustion and activation in HIV infection. *Curr Opin HIV Aids*. 2008;3(3):362-7.

Kestelman P, Trussel, J. *Efficacy of the simultaneous use of condoms and spermicides. Family Planning Perspectives*. 1991;23(5):226-7.

Komohara Y, Jinushi M, Takeya M. *Clinical significance of macrophage heterogeneity in human malignant tumors. Cancer Sci*. 2014;105:1–8.

Kuang DM, Zhao Q, Peng C, Xu J, Zhang JP, Wu C, et al. *Activated monocytes in peritumoral stroma of hepatocellular carcinoma foster immune privilege and disease progression through PD-L1. J Exp Med*. 2009;206(6):1327-37.

Latchman Y, Wood CR, Chernova T, Chaudhary D, Borde M, Chernova I, et al., *PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. Nat Immunol*. 2001;2(3):261-268.

Lavin Y, Merad M. *Macrophages: gatekeepers of tissue integrity. Cancer Immunol Res*. 2013;1(4):201-9.

Lavin Y, Winter D, Blecher-Gonen R, David E, Keren-Shaul H, Merad M, et al. *Tissue-dependent macrophage enhancer landscapes are shaped by the local microenvironment. Cell*. 2014;159:1312-26.

Llosa NJ, Cruise M, Tam A, Wicks EC, Hechenbleikner EM, Taube JM, et al. *The vigorous immune microenvironment of microsatellite instable colon cancer is balanced by multiple counter-inhibitory checkpoints. Cancer Discov*. 2015;5(1):43-51.

Masteller E, Wong, B. *Targeting IL-34 in chronic inflammation. Drug Discov Today*, 2014;19:1212–16.

Nishimura H, Nose M, Hiai H, Minato N, Honjo T. *Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. Immunity.* 1999;11:141-51.

Nishimura H, Honjo T. *PD-1: an inhibitory immunoreceptor involved in peripheral tolerance. Trends Immunol.* 2001a; 22: 265-8.

Nishimura H, Okazaki T, Tanaka Y, Nakatani K, Hara M, Matsumori A, et al. *Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor-deficient mice. Science.* 2001b;291:319-22.

Brochura do investigador do Nivolumabe (*Nivolumab Investigator's Brochure*). Versão 13. Bristol-Myers Squibb. 21 de julho de 2014

Noy R, Pollard J. *Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy. Immunity.* 2014;41:49–61.

Okazaki T, Tanaka Y, Nishio R, Mitsuiye T, Mizoguchi A, Wang J, et al. *Autoantibodies against cardiac troponin I are responsible for dilated cardiomyopathy in PD-1-deficient mice. Nat Med.* 2003;9:1477-83.

Opdivo [Bula]. Princeton, NJ: Bristol-Myers Squibb Company; Março de 2015.

Pardoll D. *Does the immune system see tumors as foreign or self? Annu Rev Immunol.* 2003;21:807-39.

Pyonteck S, Akkari L, Schuhmacher A, Bowman R, Sevenich L, Quail D, et al. *CSF-1R inhibition alters macrophage polarization and blocks glioma progression. Nat Med.* 2013;19:1264–72.

Radi Z, Guzman R, Bell R. *Increased connective tissue extracellular matrix in the op/op model of osteopetrosis. Pathobiology.* 2009;76:199-203

Radi Z, Koza-Taylor P, Bell R, Obert L, Runnels H, Beebe J, et al. *Increased serum enzyme levels associated with Kupffer cell reduction with no signs of hepatic or skeletal muscle injury. Am J Pathol.* 2011;179: 240-247.

Ries C, Cannarile M, Hoves S, Benz J, Wartha K, Runza V, *et al.* *Targeting tumor-associated macrophages with anti-CSF-1R antibody reveals a strategy for cancer therapy. Cancer Cell.* 2014;25:846–59.

Rizvi NA, Mazeires J, Planchard D, Stinchcombe TE, Dy GK, Antonia SJ, *et al.* *Activity and safety of nivolumab, an anti-PD-1 immune checkpoint inhibitor, for patients with advanced, refractory squamous non-small-cell lung cancer (CheckMate 063): a phase 2, single-arm trial. Lancet Oncol.* 2015;16(3):257-65.

Ruffell B, Coussens LM. *Macrophages and therapeutic resistance in cancer. Cancer Cell.* 2015;27:462-72.

Rutebemberwa A, Ray SC, Astemborski JL, Levine J, Liu L, Dowd KA, *et al.* *High-programmed death-1 levels on hepatitis C virus-specific T cells during acute infection are associated with viral persistence and require preservation of cognate antigen during chronic infection. J Immunol.* 2008;181:8215-25.

Sadis S, Mukherjee A, Olson S, Dokmanovich M, Maher R, Cai C, *et al.* *Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of PD-0360324, a human monoclonal antibody to monocyte/macrophage colony stimulating factor, in healthy volunteers. ACR/ARHP. Scientific Meeting, 17–21 de outubro de 2009, Philadelphia, PA, Pôster 408.*

Salama AD, Chitnis T, Imitola J, Ansari MJ, Akiba H, Tushima F, *et al.* *Critical role of the programmed death-1 (PD-1) pathway in regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis. J Exp Med.* 2003;198:71-8.

Sharpe AH, Wherry EJ, Ahmed R, Freeman GJ. *The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection. Nature Immunol.* 2007;8:239-45.

Sheppard KA, Fitz LJ, Lee JM, Benander C, George JA, Wooters J, *et al.* *PD-1 inhibits T-cell receptor induced phosphorylation of the*

*ZAP70/CD3zeta signalosome and downstream signaling to PKC-theta. FEBS Letters.* 2004;574:37-41.

Tumeh PC, Harview CL, Yearley JH, Shintaku IP, Taylor EJM, Robert L, et al. *PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. Nature.* 2014;515:568-71.

Velu V, Titanji K, Zhu B, Husain S, Pladevega A, Lai L, et al. *Enhancing SIV-specific immunity in vivo by PD-1 blockade. Nature.* 2009;458:206-10.

Wang C, Thudium KB, Han M, Wang XT, Huang H, Feingersh D, et al. *In vitro characterization of the anti-PD-1 antibody nivolumab, BMS-936558, and in vivo toxicology in non-human primates. Cancer Immunol Res.* 2014;2:846-56.

Weber JS, D'Angelo SP, Minor D, Hodi FS, Gutzmer R, Neyns B, et al. *Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. Lancet Oncol.* 2015;16(4):375-84.

Wolchok JD, Hoos A, O'Day S, Weber JS, Hamid O, Lebbe C. *Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria. Clin Cancer Res.* 2009;15:7412-20.

Zitvogel L, Tesniere A, Kroemer G. *Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion. Nat Rev Immunol.* 2006;6:715-27.

Zhu Y, Knolhoff B, Meyer M, Nywening T, West B, Luo J, et al. *CSF1/CSF1R blockade reprograms tumor-infiltrating macrophages and improves response to T-cell checkpoint immunotherapy in pancreatic cancer models. Cancer Res.* 2014;74:5057-69.

**APÊNDICE A - PROGRAMAÇÃO DAS AVALIAÇÕES****MONOTERAPIA E COMBINAÇÃO CABIRALIZUMABE DA FASE 1A - PROGRAMAÇÃO DAS****AVALIAÇÕES DO PACIENTE**

Procedimento <sup>a, b</sup>	Triagem	Ciclo 1				Ciclo 2	Ciclo x <sup>r</sup>	Conclusão do Tratamento / Visita de Término Antecipado
	Dia -28 ao Dia 0	Dia 1	Dia 2	Dia 4	Dia 8	Dia 1	Dia 1	
	Semana 0	Semana 1			Semana 2	Semana 3	Semana ≥ 5	
Consentimento informado	x							
Revisar/Confirmar os critérios de elegibilidade	x	x						
Histórico médico/Demográfico	x	x						
Exame físico <sup>c</sup>	x	x			x	x	x	x
Altura e peso <sup>d</sup>	x	x				x	x	x
Sinais vitais <sup>e</sup>	x	x			x	x	x	x
Estado de desempenho ECOG <sup>f</sup>	x	x				x	x	x
Exames laboratoriais de triagem <sup>g</sup>	x							
Exames laboratoriais de seg. clínica <sup>h</sup>	x	x			x	x	x	x
ECG de 12 derivações <sup>i</sup>	x							x
Avaliação do tumor por CT/MRI <sup>j,k</sup>	x						x	x
Teste de gravidez <sup>l</sup>	x	x						x
Biópsia <sup>m</sup>	x						x	x
Amostragem para PK <sup>n,o</sup>		x	x	x	x	x	x	x
Amostragem para PD <sup>n</sup>		x	x	x	x	x	x	x
Amostragem para ADA <sup>n</sup>		x				x	x	x
Ensaio ANA <sup>p</sup>		x				x	x	x
Droga(s) do estudo <sup>q</sup>		x				x	x	
Eventos Adversos	x----- -----x							x
Medicações anteriores/concomitantes	x----- -----x							x

**NOTAS PARA O CRONOGRAMA DE AVALIAÇÕES DA FASE 1A**

- A menos que especificado, o procedimento é para ser concluído dentro de  $\pm 72$  horas do ponto no tempo programado e para ser sincronizado com o dia de administração de infusão de cabiralizumabe.
- Qualquer avaliação clínica, estudo laboratorial ou testes adicionais não



especificados podem ser obtidos a qualquer momento, se clinicamente indicado.

- c. O exame físico padrão será realizado conforme determinado pelo Investigador, particularmente após constatações físicas para resolução. Os exames físicos padrão devem ser conduzidos em qualquer momento para acompanhar os relatórios AE.
- d. **A altura somente é necessária para ser registrada na Triagem (para cálculo do BMI). O peso é necessário ser registrado no Dia 1 de cada ciclo. A dose será ajustada somente se a alteração de peso for >10% da primeira dose no Ciclo 1 Dia 1.**
- e. Os sinais vitais incluem pulso, frequência respiratória, pressão sanguínea e temperatura na posição supina. Deve-se mensurar antes da dose e após a conclusão de cada infusão IV nos seguintes pontos de tempo: 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos e 1 hora pós-dose (30 minutos e 1 hora apenas para cabiralizumabe). A oxímetria de pulso é realizada em repouso e após esforço somente antes da dosagem.
- f. Avaliações de Estado ECOG do Paciente são para serem realizadas no prazo de 72 horas antes da administração da dosagem (Dia 1 de cada ciclo).
- g. Os exames laboratoriais de triagem incluem sorologia para Hepatite B (HBsAg e HBcAb), Hepatite C (anticorpo HCV), anticorpo HIV e teste Quantiferon (para TB latente).
- h. **Exames laboratoriais de Segurança Clínica:**  
**Hematologia** incluindo hemograma completo com diferencial, plaquetas, hemoglobina, hematócrito, RBC (hemácias) e índices de RBC.  
**Química** inclui CK (creatinina quinase), AST (aspartato transaminase), ALT (alanina transaminase), bicarbonato, bilirrubina, (direta e total), BUN (nitrogênio ureico no sangue), cálcio, cloreto, creatinina, glicose, LDH

(lactato desidrogenase), fósforo, potássio, sódio e, se aplicável, teste de gravidez sérico. Se a CK está elevada a qualquer momento, obter as troponinas (cardíaca e esquelética), isoenzimas CK, aldolase e ECG; repetir CK e estes testes adicionais diariamente ou em outros intervalos conforme clinicamente indicado, até resolvido ou estável. Se tanto AST como ALT é elevada, obter bilirrubina sérica total, fosfatase alcalina; repetir diariamente ou em outros intervalos, conforme clinicamente indicado, até resolvido ou estável. Testes adicionais podem ser obtidos a qualquer momento, se clinicamente indicado.

**Urinálise** somente será feita na Triagem e quando clinicamente indicado.

- i. Obter registros de ECG na Triagem e Conclusão do Tratamento/Visita de Término Antecipado (após coleta de sangue para PK, registro de tempo exato). Os ECG adicionais devem ser obtidos a qualquer momento, se a CK sérica ou a troponina cardíaca estiverem elevadas; se anormal (exceto a taquicardia sinusal), os ECGs devem ser obtidos (se clinicamente indicado), até que a anormalidade seja resolvida ou esteja clinicamente estável. Testes ECGs adicionais podem ser obtidos a qualquer momento, se clinicamente indicado. Os ECGs para cada paciente devem ser obtidos da mesma máquina sempre que possível. Para minimizar a variabilidade, é importante que os pacientes estejam em posição de repouso durante pelo menos 5 minutos antes de cada avaliação de ECG. A posição do corpo deve ser consistentemente mantida para cada avaliação de ECG para evitar mudanças na frequência cardíaca. Distúrbios ambientais (por exemplo, televisão, rádio, conversação) devem ser evitados durante o período de repouso pré-ECG e durante a gravação do ECG.
- j. **CT/MRI dos locais do Tumor mensurados de acordo com Critérios**

**de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos (RECIST) v1.1. Se o paciente terminar antes de varreduras de CT/MRI programadas, o sujeito deveria ter varreduras feitas na Conclusão do Tratamento/Visita de Término Antecipado. A mesma modalidade de medida deve ser preferencialmente usada pelo local para manter a consistência entre os vários pontos no tempo.**

- k. **Realizadas a cada 8 semanas para os primeiros 12 meses para pacientes que permanecem no tratamento (e a cada 12 semanas depois disso) e 28 dias ( $\pm$  7 dias) após a última dose de tratamento do estudo. As varreduras de CT/MRI não precisam ser repetidas se realizadas dentro de 8 semanas antes da Conclusão do Tratamento /Visita de Término Antecipado ou se a progressão tumoral foi anteriormente determinada.**
- l. Todas as mulheres com potencial fértil (incluindo aquelas que tiveram uma laqueadura) terão um teste de gravidez no soro na Triagem, no Ciclo 1 Dia 1, Conclusão do Tratamento/Visita de Término Antecipado e quando clinicamente indicado.
- m. **A biópsia no local do tumor primário ou tumor metastático será coletada na Triagem e antes do Ciclo 3, Dia 1 da dose. Recomenda-se que os pacientes que têm progressão documentada recebam outra biópsia no fim do tratamento.** As biópsias serão avaliadas quanto a leucócitos associados com o tumor, proliferação de tumor e marcadores de morte celular.
- n. As amostras de sangue serão coletadas para análises de PK, PD e ADA. Nem todas as visitas necessitarão da coleta de todas as três - Consulte o Apêndice C para programação de coleta.
- o. **Amostra de sangue será coletada para avaliar a  $C_{\text{máx}}$  e  $C_{\text{mín}}$  no Dia 1 das drogas de estudo nos Ciclos 1,2, 3, 5, 8, 9, 13, 21 e no fim do**

**tratamento.**

- p. Testes de anticorpo antinuclear (ANA) por anticorpo fluorescente indireto (IFA). Se o título for positivo, verificar a taxa de sedimentação de eritrócitos (ESR) e de proteína C reativa (CRP) para confirmar o resultado. Será verificado antes da dose nos Ciclos 1, 2, 3, 5, 9, 13, 21, depois de cada 6 ciclos enquanto em tratamento e na Conclusão do Tratamento/Visita de Término Antecipado.
- q. Os medicamentos do estudo Cabiralizumabe +/- nivolumabe serão administrados a cada 2 semanas em ciclos de 14 dias durante 4 semanas. A dosagem pode continuar até PD ou toxicidade inaceitável.
- r. Estas avaliações são para ser realizadas antes de cada dose subsequente (com as exceções mencionadas no Apêndice B) para aqueles pacientes que continuam tratamento sem sinais de doença progressiva ou toxicidade.

**APÊNDICE B - PROGRAMAÇÃO DAS AVALIAÇÕES****CABIRALIZUMABE + NIVOLUMABE NA FASE 1B - PROGRAMAÇÃO DAS AVALIAÇÕES****DO PACIENTE**

Procedimento <sup>a, b</sup>	Triagem	Ciclo 1				Ciclo 2	Ciclo x <sup>s</sup>	Conclusão do Tratamento / Visita de Término Antecipado
	Dia -28 ao Dia 0	Dia 1	Dia 2	Dia 4	Dia 8	Dia 1	Dia 1	
	Semana 0	Semana 1			Semana 2	Semana 3	Semana ≥ 5	
Consentimento informado	x							
Revisar/Confirmar os critérios de elegibilidade	x	x						
Histórico médico/Demográfico	x	x						
Exame físico <sup>c</sup>	x	x			x	x	x	x
Altura e peso <sup>d</sup>	x	x				x	x	x
Sinais vitais <sup>e</sup>	x	x			x	x	x	x
Estado de desempenho ECOG <sup>f</sup>	x	x				x	x	x
Exames laboratoriais de triagem <sup>g</sup>	x							

Procedimento <sup>a, b</sup>	Triagem	Ciclo 1				Ciclo 2	Ciclo x <sup>s</sup>	Conclusão do Tratamento / Visita de Término Antecipado
	Dia -28 ao Dia 0	Dia 1	Dia 2	Dia 4	Dia 8	Dia 1	Dia 1	
	Semana 0	Semana 1			Semana 2	Semana 3	Semana ≥ 5	
Exames laboratoriais de seg. clínica <sup>h</sup>	x	x			x	x	x	x
ECG de 12 derivações <sup>i</sup>	x							x
Avaliação do tupo por CT/MRI <sup>j,k</sup>	x						x	x
Teste de gravidez <sup>l</sup>	x	x						x
Biópsia <sup>m</sup>	x						x	x
Amostragem para PK <sup>n,o</sup>		x	x	x	x	x	x	x
Amostragem para PD <sup>n</sup>		x	x	x	x	x	x	x
Amostragem para ADA <sup>n</sup>		x				x	x	x
Ensaio ANA <sup>p</sup>		x				x	x	x
Drogas do estudo <sup>q,r</sup>		x				x	x	
Eventos Adversos	x----- -----x							x
Medicações anteriores/concomitantes	x----- -----x							x

#### **NOTAS PARA O CRONOGRAMA DE AVALIAÇÕES DA FASE 1B**

- A menos que especificado, o procedimento é para ser concluído dentro de  $\pm 72$  horas do ponto no tempo programado e para ser sincronizado com o dia de administração de infusão de cabiralizumabe.
- Qualquer avaliação clínica, estudo laboratorial ou testes adicionais não especificados podem ser obtidos a qualquer momento, se clinicamente indicado.
- O exame físico padrão será realizado conforme determinado pelo Investigador, particularmente após constatações físicas para resolução. Os exames físicos padrão devem ser conduzidos em qualquer momento para acompanhar os relatórios AE. Será tirada uma foto dos olhos do sujeito em nível basal, e subsequentemente em visitas de acompanhamento, conforme clinicamente indicado.
- A altura somente é necessária para ser registrada na Triagem (para cálculo do BMI). O peso é necessário ser registrado no Dia 1 de cada**

**ciclo. A dose será ajustada somente se a alteração de peso for >10% da primeira dose.**

- e. Os sinais vitais incluem pulso, frequência respiratória, pressão sanguínea e temperatura na posição supina. Deve-se mensurar antes da dose e após a conclusão da infusão IV nos seguintes pontos de tempo: 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos e 1 hora pós-dose (30 minutos e 1 hora apenas para cabiralizumabe). A oxímetria de pulso é realizada em repouso e após esforço somente antes da dosagem.
- f. Avaliações de Estado ECOG do Paciente são para serem realizadas no prazo de 96 horas antes da administração da dosagem (Dia 1 de cada ciclo).
- g. Os exames laboratoriais de triagem incluem sorologia para Hepatite B (HBsAg e HBcAb), Hepatite C (anticorpo HCV), anticorpo HIV e teste Quantiferon (para TB latente).
- h. **Exames laboratoriais de Segurança Clínica:**

**Hematologia** incluindo hemograma completo com diferencial, plaquetas, hemoglobina, hematócrito, RBC (hemácias) e índices de RBC.

**Química** inclui CK (creatinina quinase), AST (aspartato transaminase), ALT (alanina transaminase), bicarbonato, bilirrubina, (direta e total), BUN (nitrogênio ureico no sangue), cálcio, cloreto, creatinina, glicose, LDH (lactato desidrogenase), fósforo, potássio, sódio e, se aplicável, teste de gravidez sérico. Se a CK está elevada a qualquer momento, obter as troponinas (cardíaca e esquelética), isoenzimas CK, aldolase e ECG; repetir CK e estes testes adicionais diariamente ou em outros intervalos conforme clinicamente indicado, até resolvido ou estável. Se tanto AST como ALT é elevada, obter bilirrubina sérica total, fosfatase alcalina; repetir diariamente ou em outros intervalos, conforme clinicamente indicado, até resolvido ou estável. Testes adicionais podem ser obtidos a

qualquer momento, se clinicamente indicado.

**Urinálise** somente será feita na Triagem e quando clinicamente indicado.

- i. Obter registros de ECG na Triagem e Conclusão do Tratamento/Visita de Término Antecipado (após coleta de sangue para PK/PD, registro de tempo exato). Os ECG adicionais devem ser obtidos a qualquer momento, se a CK sérica ou a troponina cardíaca estiverem elevadas; se anormal (exceto a taquicardia sinusal), os ECGs devem ser obtidos (se clinicamente indicado), até que a anormalidade seja resolvida ou esteja clinicamente estável. Testes ECGs adicionais podem ser obtidos a qualquer momento, se clinicamente indicado. Os ECGs para cada paciente devem ser obtidos da mesma máquina sempre que possível. Para minimizar a variabilidade, é importante que os pacientes estejam em posição de repouso durante pelo menos 5 minutos antes de cada avaliação de ECG. A posição do corpo deve ser consistentemente mantida para cada avaliação de ECG para evitar mudanças na frequência cardíaca. Distúrbios ambientais (por exemplo, televisão, rádio, conversa) devem ser evitados durante o período de repouso pré-ECG e durante a gravação do ECG. Testes adicionais podem ser obtidos a qualquer momento, se clinicamente indicado.
- j. **CT/MRI dos locais do Tumor mensurados de acordo com Critérios de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos (RECIST) v1.1. Se o sujeito terminar antes da varredura de CT/MRI programadas, o sujeito deveria ter varreduras feitas na Conclusão do Tratamento/Visita de Término Antecipado. Respostas por CT/MRI serão avaliadas com o uso de RECIST v1.1. No caso de melanoma resistente a PD-1 e câncer de pulmão escamoso, precisam ser feitas varreduras CT na extremidade dos Ciclos 4 e 6. A mesma modalidade de medida deve ser preferencialmente usada pelo local para manter a consistência**

entre os vários pontos no tempo. As avaliações do tumor para todos os outros tipos de câncer serão feitas a cada 2 meses (4 ciclos) a menos que clinicamente indicado.

- k. **Varreduras realizadas a cada 8 semanas para os primeiros 12 meses para sujeitos que permanecem no tratamento (e a cada 12 semanas depois disso) e 28 dias ( $\pm$  7 dias) após a última dose de tratamento do estudo. As varreduras de CT/MRI não precisam ser repetidas se realizadas dentro de 8 semanas antes da Conclusão do Tratamento /Visita de Término Antecipado ou se a progressão tumoral foi anteriormente determinada.**
- l. Todas as mulheres com potencial fértil (incluindo aquelas que tiveram uma laqueadura) terão um teste de gravidez no soro na Triagem e na Conclusão do Tratamento/Visita de Término Antecipado e quando clinicamente indicado.
- m. **A biópsia no local do tumor primário ou tumor metastático será coletada na Triagem e antes do Ciclo 3, Dia 1 da dose. Recomenda-se que sujeitos que têm progressão documentada recebam outra biópsia no fim do tratamento.** As biópsias serão avaliadas quanto a leucócitos associados com o tumor, proliferação de tumor e marcadores de morte celular.
- n. As amostras de sangue serão coletadas para análises de PK, PD e ADA. Nem todas as visitas necessitarão da coleta de todas as três - Consulte o Apêndice C para programação de coleta.
- o. **Amostra de sangue será coletada para avaliar a  $C_{\text{máx}}$  e  $C_{\text{mín}}$  no Dia 1 das drogas de estudo nos Ciclos 1,2, 3, 5, 8, 9, 13, 21 e no fim do tratamento.**
- p. Testes de anticorpo antinuclear (ANA) por anticorpo fluorescente indireto (IFA). Se o título for positivo, verificar a taxa de sedimentação de



eritrócitos (ESR) e de proteína C reativa (CRP) para confirmar o resultado. Será verificado antes da dose nos Ciclos 1, 2, 3, 5, 9, 13, 21, depois de cada 6 ciclos enquanto em tratamento e na Conclusão do Tratamento/Visita de Término Antecipado.

- q. **Cabiralizumabe e nivolumabe serão, ambos, administrados por infusão IV durante trinta minutos. O nivolumabe será administrado primeiro, com 30 minutos de repouso entre as 2 infusões, seguido por cabiralizumabe durante 30 min. de infusão.**
- r. A droga do estudo cabiralizumabe + nivolumabe será administrada a cada 2 semanas em ciclos de 14 dias e continuará até PD ou toxicidade inaceitável.
- S. Estas avaliações são para ser realizadas antes de cada dose subsequente (com as exceções mencionadas no Apêndice B) para pacientes que continuam tratamento sem sinais de doença progressiva ou toxicidade.

### **APÊNDICE C - PROGRAMAÇÃO DE COLETA DE AMOSTRA**

#### **FASE 1A/B: FLUXOGRAMA DE ESTUDO PARA FARMACOCINÉTICA E**

#### **FARMACODINÂMICA DE COLETAS DE AMOSTRA DE SANGUE**

<b>Ciclo do estudo</b>	<b>Dia do estudo</b>	<b>Ponto no tempo</b>	<b>Tipo de amostra</b>
Triagem	Triagem (Dia-28)	Triagem	Tecido de Biópsia
Ciclo 1	Dia 1	Antes da infusão	PK do Cabiralizumabe & Nivo (soro)
			ADA do Cabiralizumabe & Nivo (soro)
			Marcadores séricos selecionados (soro)
			ANA (soro)
			Monócitos CD14 <sup>+</sup> /CD16 <sup>+</sup> , painel MDSC (sangue total)
			Expressão gênica por RNAseq (sangue total)
			Fenótipo de céls. T (PBMCs congeladas)
			Painel <i>multiplex</i> de citocinas (soro)
		15 min após a infusão	PK do Cabiralizumabe & Nivo (soro)
		4 hr após a infusão	PK do Cabiralizumabe (soro)

Ciclo do estudo	Dia do estudo	Ponto no tempo	Tipo de amostra
	Dia 2	24 hr após a infusão	PK do Cabiralizumabe (soro)
			Expressão gênica por RNAseq (sangue total)
			Painel <i>multiplex</i> de citocinas (soro)
	Dia 4	72 hr após a infusão	PK do Cabiralizumabe (soro)
			Monócitos CD14 <sup>+</sup> /CD16 <sup>+</sup> , (sangue total)
			Expressão gênica por RNAseq (sangue total)
	Dia 8	168 hr após a infusão	PK do Cabiralizumabe (soro)
			CD14 <sup>+</sup> /CD16 <sup>+</sup> , (sangue total)
			Expressão gênica (sangue total)
			Fenótipo de céls. T (PBMCs congeladas)
Ciclos 2-3	Dia 1	Antes da infusão	Tecido de Biópsia (a ser coletado antes da dose do Ciclo 3, Dia 1)
			PK do Cabiralizumabe & Nivo(soro)
			ADA do Cabiralizumabe & Nivo (soro)
			Marcadores séricos selecionados (soro)
			ANA (soro)
			Monócitos CD14 <sup>+</sup> /CD16 <sup>+</sup> , (sangue total)
			Expressão gênica por RNAseq (sangue total)
			painel MDSC (sangue total) (apenas Ciclo 3)
			Fenótipo de céls. T (PBMCs congeladas), (antes do Ciclo 3 apenas; deve corresponder à biópsia de tecido)
			Painel <i>multiplex</i> de citocinas (soro)
Ciclo 8	Dia 1	15 min após a infusão	PK do Cabiralizumabe (soro) (Ciclo 2 apenas)
		15 min após a infusão	PK do PK do Cabiralizumabe e Nivo (soro)
Ciclos 5, 9, 13, 21	Dia 1	Antes da infusão	PK do Cabiralizumabe e Nivo (soro)
			Marcadores séricos selecionados (soro) (antes do Ciclo 9)
			ANA (soro) (e a cada 6 Ciclos iniciando após o Ciclo 21)
			Monócitos CD14 <sup>+</sup> /CD16 <sup>+</sup> (sangue total) (antes do Ciclo 9)
			Expressão gênica por RNAseq (sangue total)
			ADA do Cabiralizumabe & Nivo (soro) (antes da dose para os Ciclos 5, 13, and 21)
			Painel <i>multiplex</i> de citocinas (soro) (antes da dose para os Ciclos 9 e 21)
Conclusão do Tratamento / Término antecipado	Descontinuação do estudo/PD	Pós-tratamento	Tecido de biópsia para pacientes que têm a progressão da doença documentada
			PK do Cabiralizumabe & Nivo (soro)
			ADA do Cabiralizumabe & Nivo (soro)
			Marcadores séricos selecionados (soro)
			ANA (soro)

Ciclo do estudo	Dia do estudo	Ponto no tempo	Tipo de amostra
100 dias após a última dose			Monócitos CD14 <sup>+</sup> /CD16 <sup>+</sup> , (sangue total)
			Painel <i>multiplex</i> de citocinas (soro)
			Expressão gênica por RNAseq (sangue total)
			ADA do Cabiralizumabe & Nivo (soro)
			PK do Cabiralizumabe (soro)

#### Apêndice D - Coleta De Amostra Para Análises de PD

- Amostras de sangue
- Análises de sangue total
- Monócitos CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup>
- Expressão gênica
- DNA para análise de SNP
- Análises séricas
- PK do cabiralizumabe
- PK do nivolumabe
- ADA de cabiralizumabe
- ADA de nivolumabe
- ANA (se o resultado for positivo, verificar ESR e PCR para confirmar)
- Multiplex de citocina no soro
- Marcadores no soro selecionados
- Análise de PBMC congelada para caracterização de células T, monócitos e células supressoras derivadas de mieloide por citometria de fluxo.
- Amostras de biópsia do tumor
- Análise de IHQ com biomarcadores selecionados
- Análise de expressão gênica
- Clonalidade de receptor de células T
- Análise de neoantígeno

**EXEMPLO 5****RESULTADOS DO ESTUDO FASE IA/IB DE MONOTERAPIA E TERAPIA COMBINADA****COM CABIRALIZUMABE E NIVOLUMABE**

[1044] No estudo acima, foram avaliados 24 pacientes com tumor sólido recebendo cabiralizumabe e 205 pacientes com tumor sólido recebendo terapia combinada de cabiralizumabe e nivolumabe. As características basais dos pacientes são mostradas abaixo:

**TABELA 6**

	<b>Cabiralizumabe como monoterapia (n = 24)</b>	<b>Cabiralizumabe + Nivolumabe (n = 205)</b>
Idade mediana (faixa), anos <65 anos, n (%)	65,5 (48-88) 10 (42)	64 (25-85) 110 (54)
Masculino, n (%)	13 (54)	100 (49)
Estado de desempenho do ECOG, n (%)		
0	7 (29)	55 (27)
1	17 (71)	145 (71)
2	0	4 (2)
Não reportado	0	1 (<1%)
Nº de regimes anteriores, n (%)		
0	0	7 (3)
1	5 (21)	47 (23)
2	2 (8)	58 (28)
≥ 3	17 (71)	93 (45)
Nº de regimes anteriores para doença metastática, n (%)		
0	7 (29)	77 (38)
1	6 (25)	28 (14)
2	3 (13)	44 (21)
≥ 3	8 (33)	56 (27)

[1045] O perfil de segurança da combinação foi, de modo geral, consistente com o do nivolumabe (Brahmer J. *et al. N. Engl. J. Med.* 373: 123-135 (2015); Ferris RL *et al. N. Engl. J. Med.* 375: 1856-67 (2016)) e com a

monoterapia com cabiralizumabe. Os eventos adversos relacionados ao tratamento mais comuns foram elevações da creatina quinase e enzimas hepáticas séricas (sem elevação da bilirrubina). Estes resultados podem ser secundários à depleção de células de Kupffer (macrófagos) pelo cabiralizumabe. Um resumo do perfil de segurança é fornecido na tabela abaixo.

**TABELA 7**

	Cabiralizumabe como monoterapia (n = 24)		Cabiralizumabe + Nivolumabe (n = 205)	
	Qualquer grau, n (%)	Grau 3-4, n (%)	Qualquer grau, n (%)	Grau 3-4, n (%)
<b>Any treatment-related AE (TRAE)</b>	15 (63)	13 (54)	184 (90)	100 (49)
<b>AEs leading to discontinuation</b>	3 (13)	2 (8)	15 (7)	10 (5)
<b>TRAES clínicos (≥ 15% dos pacientes tratados com a combinação)</b>				
Edema periorbital	5 (21)	0	84 (41)	1 (<1)
Fatiga	7 (29)	0	74 (36)	11 (5)
Erupção cutânea	1 (4)	1 (4)	38 (19)	8 (4)
Prurido	2 (8)	0	34 (17)	2 (1)
Náusea	3 (13)	0	30 (15)	0
<b>Anormalidades laboratoriais de interesse relacionadas ao tratamento</b>	10 (42)	9 (38)	103 (50)	40 (20)
Elevações de enzimas séricas <sup>a</sup>	3 (13)	2 (8)	42 (20)	24 (12)
Elevações de enzimas Pancreáticas <sup>b</sup>				
<b>Mortes relacionadas ao tratamento</b>	0		3 (1,5) <sup>c</sup>	

<sup>a</sup> Inclui condições de AE indicativas de CPK, AST, ALT e LDH elevados. <sup>b</sup>

Inclui condições de AE indicativas de amilase e lipase elevadas. <sup>c</sup> Inclui pneumonite (n = 1, cabiralizumabe 1 mg/kg + nivolumabe), dificuldade respiratória (n = 1, cabiralizumabe 4 mg/kg + nivolumabe) e dificuldade respiratória aguda (n = 1, cabiralizumabe 4 mg/kg + nivolumabe)

AE = evento adverso; ALT = alanina aminotransferase; AST = aspartato aminotransferase; CPK = creatina fosfoquinase; LDH = lactato desidrogenase

[1046] A depuração do cabiralizumabe é semelhante quando administrada em monoterapia ou em combinação com o nivolumabe. A farmacocinética do cabiralizumabe em doses iguais ou superiores a 4 mg/kg Q2W aproxima-se do intervalo linear de doses, sugerindo saturação da depuração mediada pelo alvo. A exposição com a dose de 4 mg/kg de cabiralizumabe na presença de nivolumabe foi semelhante nos tipos de tumor testados. O cabiralizumabe com ou sem nivolumabe também mostrou baixa imunogenicidade. (Os dados de farmacocinética e imunogenicidade não são mostrados.)

[1047] As concentrações de monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> por microlitro de sangue periférico depois de uma primeira dose de cabiralizumabe ou cabiralizumabe mais nivolumabe foram obtidas em 34 pacientes com tumores sólidos avançados. (Consulte as Figuras 3A e 3B). Como mostrado na Figura 3A, a monoterapia de pelo menos 2 mg/kg de cabiralizumabe ou terapia combinada de pelo menos 4 mg/kg de cabiralizumabe mais 3 mg/kg de nivolumabe Q2W é suficiente para que os níveis de monócitos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> fiquem abaixo de 10 monócitos por microlitro em 3 dias da dose inicial e também permaneçam abaixo desse limite por um período de pelo menos 10 dias ou até a próxima dose programada no dia 14. Redução dose-dependente dos níveis de monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> circulantes atingiram um máximo em dosagens de 4 mg/kg de cabiralizumabe Q2W. A Fig. 3B mostra que estes níveis permaneceram abaixo de 10 monócitos por microlitro de sangue periférico na coorte de pacientes do câncer do pâncreas e nos outros pacientes com câncer remanescentes.

[1048] Dentro da coorte do câncer pancreático a partir deste estudo clínico, os dados demográficos dos pacientes e perfis de segurança foram como mostrado nas tabelas abaixo. Dos 33 pacientes listados, 31 tiveram respostas avaliáveis.

**TABELA 8**

	Cabiralizumabe 4 mg/kg + Nivolumabe 3 mg/kg
	Câncer de Pâncreas (n = 33)
<b>Idade mediana (faixa), anos</b> <65 anos, n (%)	64 (37-85) 17 (52)
<b>Masculino, n (%)</b>	17 (52)
<b>Estado de desempenho ECOG, n (%)</b> 0 1 2	13 (39) 19 (58) 1 (3)
<b>Nº de regimes anteriores, n (%)</b> 0 1 2 ≥ 3	1 (3)* 3 (9) 14 (42) 15 (45)
<b>Nº de regimes anteriores para doença metastática, n (%)</b> 0 1 2 ≥ 3	7 (21) 4 (12) 12 (36) 10 (30)

\* O paciente era inelegível ou recusou a terapia padrão.

**TABELA 9**

	Cabiralizumabe 4 mg/kg + Nivolumabe 3 mg/kg	
	Câncer de Pâncreas (n = 33)	
	Qualquer Grau n (%)	Grau ¾ n (%)
<b>Qualquer TRAE</b>	31 (94)	20 (61)
<b>AEs levando à descontinuação</b>	3 (9)	3 (9)

	<b>Cabiralizumabe 4 mg/kg + Nivolumabe 3 mg/kg</b>	
	<b>Câncer de Pâncreas (n = 33)</b>	
	<b>Qualquer Grau n (%)</b>	<b>Grau <sup>3/4</sup> n (%)</b>
<b>TRAEs clínicos em ≥ 15% dos pacientes</b> Fadiga Edema periorbital Erupção cutânea Vômito Hiponatremia Diarreia Erupção maculopapular <b>Anormalidades Laboratoriais relacionadas ao tratamento de interesse</b> Elevações de enzimas séricas <sup>a</sup> Elevações de enzimas pancreáticas <sup>b</sup>	14 (42) 10 (30) 7 (21) 7 (21) 6 (18) 5 (15) 5 (15) 17 (52) 2 (6)	1 (3) 0 0 0 3 (9) 1 (3) 3 (9) 11 (33) 1 (3)
<b>Mortes relacionadas ao tratamento</b>	0	

<sup>a</sup> Inclui condições de AE indicativas de CPK, AST, ALT e LDH elevados. <sup>b</sup> Inclui condições de AE indicativas de amilase e lipase elevadas.

[1049]As respostas para pacientes com câncer pancreático observadas no estudo são mostradas em um gráfico de dispersão na Fig. 4. Dos 31 pacientes avaliados, o benefício clínico durável em 5 segundos (16%) e a taxa de resposta objetiva confirmada (ORR) foram de 10% (3 respostas confirmadas). Todas as três respostas confirmadas foram observadas em pacientes com doença estável por microssatélites (MSS) que historicamente não demonstraram benefício com o tratamento com inibidor anti-PD-1/PD-L1. As respostas foram acompanhadas por declínios acentuados na carga tumoral acima da linha de base, por exemplo, uma redução percentual de pelo menos 30% dentro de 50 a 100 dias após o início do tratamento. (Vide a Figura 4).



[1050] Adicionalmente, um paciente fortemente pré-tratado com câncer pancreático MSS que tinha metastizado para o fígado mostrou uma redução de 75% na carga tumoral a partir do tumor metastizado. (Vide a Figura 5). Especificamente, um paciente do sexo masculino de 58 anos de idade que recebeu 4 regimes de quimioterapia, incluindo regimes FOLFIRINOX, gemcitabina/nab-paclitaxel, 5-FU/leucovorina/irinotecano lipossômico e irinotecano lipossômico, obteve resposta parcial com o melhor alteração na carga tumoral de -52%, com declínio de 99% nos níveis de CA19-9. Além disso, um paciente do sexo masculino de 63 anos de idade que recebeu 4 regimes quimioterápicos anteriores (adjuvante FOLFIRINOX, FOLFIRINOX, capecitabina e gencitabina mais nab-paclitaxel) também mostrou uma resposta parcial durável. (Vide a Figura 14). Como mostrado na Fig. 14, as lesões no pulmão observadas antes do tratamento com cabiralizumabe e nivolumabe diminuíram significativamente após vários meses de tratamento (varreduras realizadas em fevereiro de 2017 vs. julho de 2017; veja as setas brancas na varredura de fevereiro de 2017)). Este paciente obteve uma resposta parcial com uma melhor mudança na carga tumoral de -50%. Os níveis de CA19-9 caíram 96% em relação ao basal. Em novembro de 2017, a resposta desse paciente estava em andamento.

### **EXEMPLO 6**

#### **ESTUDO CLÍNICO FASE II COM CABIRALIZUMABE E NIVOLUMABE EM COMBINAÇÃO EM PACIENTES COM CÂNCER PANCREÁTICO, COM OU SEM QUIMIOTERAPIA**

[1051] Um ensaio clínico de Fase II, randomizado e aberto, é realizado para avaliar a eficácia, segurança, tolerabilidade, farmacocinética e farmacodinâmica de uma combinação de cabiralizumabe e nivolumabe com e sem quimioterapia em pacientes com câncer pancreático avançado. Por exemplo, atualmente as opções de tratamento para pacientes com câncer pancreático avançado nos EUA são limitadas. A gencitabina combinada com o

nab-paclitaxel (Abraxane®), por exemplo, é aprovada como tratamento de primeira linha para o câncer pancreático avançado. Também foi aprovada uma combinação de quimioterapia com 5-FU, leucovorina e lipossomo irinotecano (Onivyde®) para pacientes que progrediram apesar do tratamento com quimioterapia à base de gencitabina. Neste estudo, pacientes com câncer metastático avançado que receberam tratamento com opções padrão de primeira linha baseados em gencitabina ou 5-fluorouracila (5-FU), mas progrediram após esse tratamento, receberão cabiralizumabe em combinação com o nivolumabe, com ou sem quimioterapia com gemcitabina/Abraxane® ou FOLFOX (oxaliplatina combinada, 5-FU, leucovorina).

[1052] O estudo avaliará a sobrevida mediana livre de progressão (PFS) aos 6, 9 e 12 meses, a taxa de sobrevida global (OSR) aos 6 meses, 1 ano e 2 anos, a taxa de resposta objetiva (ORR) e a duração mediana da resposta (mDOR) e incidência de eventos adversos e eventos adversos graves (AEs e SAEs). A PFS é definida como o tempo desde a primeira data da administração até a primeira progressão da doença registrada ou morte devido a qualquer causa, o que ocorrer primeiro. A ORR e mDOR serão avaliadas de acordo com os critérios RECIST v1.1.

[1053] No total, haverá 40 pacientes em cada braço de tratamento do estudo e 4 braços de tratamento no total. No Braço A, a escolha do regime de quimioterapia pelo investigador será administrada até a retirada do consentimento, morte ou início de outra terapia anticâncer: com quimioterapia de gemcitabina/nab-paclitaxel (Abraxane®) ou 5-FU/leucovorina/irinotecano lipossômico (Onivyde®). No braço B, os pacientes receberão 4 mg/kg de cabrializumabe a cada 2 semanas e 480 mg de nivolumabe a cada 4 semanas até a retirada do consentimento, morte ou início de outra terapia anticâncer. No braço C, os pacientes receberão 4 mg/kg de cabrializumabe a cada 2 semanas e 480 mg de nivolumabe a cada 4 semanas mais quimioterapia com

gemcitabina/Abraxane® até a retirada do consentimento, morte ou início de outra terapia anticâncer. No braço D, os pacientes receberão 4 mg/kg de cabiralizumabe a cada 2 semanas e 480 mg de nivolumabe a cada 4 semanas mais quimioterapia com oxaliplatina/5-FU/leucovorina (FOLFOX) até a retirada do consentimento, morte ou início de outra terapia anticâncer. Especificamente, os protocolos de tratamento para cada braço são os seguintes:

**TABELA 10**

<b>Braço de tratamento</b>	<b>Tratamento</b>	<b>Dose</b>	<b>Frequência</b>
A	Escolha do pesquisador para quimioterapia	Conforme apropriado	Conforme apropriado
B, C, D	Cabiralizumabe	4 mg/kg IV	Q2W
B, C, D	Nivolumabe	480 mg IV	Q4W
C	Gemcitabina	1000 mg/m <sup>2</sup> IV	Dia 1, 8, 15 Q4W
C	Nab-paclitaxel (Abraxane®)	125 mg/m <sup>2</sup> IV	Dia 1, 8, 15 Q4W
D	Oxaliplatina	85 mg/m <sup>2</sup> IV	Dia 1, 15 Q4W
D	5-FU	400 mg/m <sup>2</sup> bolus E 2400 mg/m <sup>2</sup> IV	Dia 1, 15 Q4W
D	Leucovorina	400 mg/m <sup>2</sup> IV	Dia 1, 15 Q4W

[1054] Para a terapia combinada de cabiralizumabe e nivolumabe (Braços B, C, D), o nivolumabe é administrado primeiro por administração IV durante 30 minutos, seguido por uma administração IV durante 30 minutos de cabiralizumabe. O tempo entre as duas infusões intravenosas geralmente é de 30 minutos, mas pode ser mais ou menos dependendo da situação. O cabiralizumabe será administrado uma vez a cada 2 semanas (Q2W; isto é, 14 dias mais ou menos 2 dias) e o nivolumabe será administrado uma vez a cada 4 semanas (Q4W; isto é, 28 mais ou menos 2 dias) até a progressão da doença ou descontinuação devido à toxicidade, retirada do consentimento ou encerramento do estudo. Os sujeitos podem ser administrados cabiralizumabe pelo menos 12 dias a partir da dose anterior de cabiralizumabe e podem ser administrados nivolumabe pelo menos 24 dias a partir da dose anterior de nivolumabe. As doses são baseadas no peso corporal no ciclo 1 dia 1 antes da

administração da primeira dose de cabiralizumabe. Nos Braços C e D, os regimes de quimioterapia serão administrados após o tratamento com nivolumabe e cabiralizumabe, com um período de descanso adicional de 30 minutos. No braço A, o regime de dosagem para injeção de irinotecano lipossômico (Onivyde®) com 5-fluorouracila e leucovorina é injeção de irinotecano lipossômico 70 mg/m<sup>2</sup> por 90 minutos, seguido de leucovorina 400 mg/m<sup>2</sup> por 30 minutos e 5-fluorouracila 2400 mg/m<sup>2</sup> ao longo de 46 horas Q2W. Nab-paclitaxel (Abraxane®) é administrado em doses de 125 mg/m<sup>2</sup> administradas como uma infusão IV durante 30 a 40 minutos nos Dias 1, 8, e 15 de cada ciclo de 28 dias. A gemcitabina é administrada nos braços A e C e 1000 mg/m<sup>2</sup> durante 30 a 40 minutos imediatamente após nab-paclitaxel nos Dias 1, 8, e 15 de cada ciclo de 28 dias. No braço D, o FOLFOX é administrado da seguinte forma: cada um (oxaliplatina 85 mg/m<sup>2</sup> no dia 1 por 2 horas; leucovorina 400 mg/m<sup>2</sup> durante 2 horas no dia 1 [leucovorina pode ser administrada concomitantemente com oxaliplatina]; 5- FU 400 mg/m<sup>2</sup> em *bolus* no dia 1, seguido de 2,400 mg/m<sup>2</sup> durante 46 horas infusão contínua) nos Dias 1 e 15 de um ciclo de 28 dias.

[1055] Os seis primeiros pacientes nos Braços C e D serão avaliados quanto à segurança antes que esses braços continuem e antes que mais pacientes sejam inscritos. Sangue, urina, amostras de tumores e ecocardiogramas serão coletados em pacientes aos 30, 60 e 100 dias de tratamento. Os desfechos da progressão ou resposta tumoral serão avaliados usando RECIST v1.1 para tumores sólidos.

[1056] Os critérios inclusão para o estudo clínico incluem os seguintes:

- Ter pelo menos 18 anos e ter diagnóstico histológico ou citológico confirmado;
- Diagnóstico de adenocarcinoma de pâncreas localmente

avanzado ou metastásico, que progrediu durante ou depois de pelo menos uma linha de quimioterapia sistêmica (regimes baseados em gemcitabina ou 5-fluorouracila);

- O tempo mínimo da primeira terapia sistêmica para adenocarcinoma recorrente/metastático do pâncreas até a progressão deve ser de pelo menos 3 meses;
- Doença mensurável por RECIST v1.1 e pelo menos uma lesão disponível para biópsia além da lesão alvo;
- A radioterapia paliativa prévia deve ter sido concluída há pelo menos 2 semanas antes da primeira dose do tratamento do estudo. Os participantes com lesões tumorais sintomáticas basais que podem equivaler a radioterapia paliativa dentro de 4 semanas após a primeira dose do tratamento do estudo são fortemente encorajados a receber radioterapia paliativa antes da inscrição;
- Capacidade funcional de acordo com a escala do ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*) de  $\leq 1$ ;
- Capacidade de se submeter a biópsias mandatórias de pré-tratamento e durante o tratamento;
- Uma função da medula adequada, conforme definido pelo seguinte:
  - i) Glóbulo Branco (WBC)  $\geq 2000 \mu\text{L}$  (estável a qualquer fator de crescimento dentro de 4 semanas da primeira administração de tratamento do primeiro);
  - ii) Neutrófilos  $\geq 1500 \mu\text{L}$  (estável a qualquer fator de crescimento dentro de 4 semanas da primeira administração de tratamento do primeiro);
  - iii) Plaquetas  $\geq 100 \times 10^3 \mu\text{L}$  (transfusão para atingir esse nível

não é permitida dentro de 2 semanas após a primeira administração do tratamento do estudo);

iv) Hemoglobina  $\geq 8,5$  g/dL (transfusão para atingir esse nível não é permitida dentro de 2 semanas após a primeira administração do tratamento do estudo);

- Outras funções de órgãos adequados, tal como definido pelo seguinte:

i) Alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST)  $\leq 3 \times$  LSN institucional,

ii) Bilirrubina total  $\leq 1,5 \times$  LSN institucional (exceto participantes com Síndrome de Gilbert que devem ter bilirrubina direta normal),

iii) Creatinina sérica  $\leq 1,5 \times$  LSN ou depuração da creatinina (CLcr)  $\geq 40$  mL/min (medido usando a fórmula de Cockcroft-Gault abaixo):

$$(140 - \text{idade em anos}) \times (\text{peso em kg}) \times 0.85$$

$$\text{CrCl Feminino} = \frac{\text{____}}{2 \times (\text{creatinina no soro em mg/dL})}$$

$$(140 - \text{idade em anos}) \times (\text{peso em kg})$$

$$\text{CrCl Masculino} = \frac{\text{____}}{72 \times (\text{creatinina no soro em mg/dL})}$$

- Capacidade para cumprir com as visitas do estudo, tratamento, procedimentos, coletas de amostras para PK e PD e acompanhamentos do estudo necessários;

- As mulheres com potencial para engravidar devem ter um teste negativo de gravidez sérico ou na urina em 24 horas após o primeiro tratamento e não devem estar amamentando e devem seguir as instruções para métodos

de contracepção para a duração do estudo e para um total de 5 meses após o término do tratamento;

- Homens sexualmente ativos devem concordar em seguir as instruções de contracepção durante o período do estudo e por 7 meses após a conclusão do tratamento e absterem-se de doar esperma durante esse período.

[1057] Os critérios de exclusão incluem os seguintes:

- Metástases do SNC suspeitas, conhecidas, ou progressivas (imagiologia necessária apenas se os participantes são sintomáticos);
- Participantes com doença autoimune ativa, conhecida ou suspeita. Participantes com vitiligo, diabetes mellitus tipo I, hipotireoidismo residual devido à condição autoimune que requer apenas reposição hormonal, participantes eutireóideos com histórico de doença de Grave (participantes com suspeita de distúrbios tireoidianos autoimunes devem ser negativos para anticorpos tireoglobulina e peroxidase tireoidiana e imunoglobulina estimulante da tireoide antes da primeira dose do tratamento do estudo), a psoríase que não requer tratamento sistêmico ou condições que não se esperam que ocorram na ausência de um gatilho externo são permitidas após discussão com o Monitor Médico;
- Participantes com uma condição que requer tratamento sistêmico com corticosteroides (> 10 mg equivalentes diários de prednisona) ou outros medicamentos imunossupressores dentro de 14 dias após a administração do tratamento em estudo, exceto para doses de esteroides

de reposição adrenal > 10 mg equivalentes diários de prednisona na ausência de doença autoimune ativa;

- Doença pulmonar intersticial que é sintomática ou que pode interferir com a detecção ou a gestão de suspeita de toxicidade pulmonar relacionada ao tratamento;
- Atual ou história de distúrbios musculares clinicamente significativos (por exemplo, miosite), lesão muscular recente não resolvida ou qualquer condição conhecida por elevar os níveis séricos de CK;
- Doença cardiovascular significativa ou não controlada, incluindo, mas não se limitando a, qualquer um dos seguintes:
  - i) Infarto do miocárdio ou acidente vascular cerebral/ataque isquêmico transitório nos últimos 6 meses,
  - ii) Angina não controlada nos últimos 3 meses,
  - iii) Qualquer histórico de arritmias clinicamente significativas (como taquicardia ventricular, fibrilação ventricular ou *torsades de pointes*),
  - iv) História de outra doença cardíaca clinicamente significativa (por exemplo, cardiomiopatia, insuficiência cardíaca congestiva com a classificação funcional III a IV da New York Heart Association, pericardite, derrame pericárdico significativo ou miocardite),
  - v) Requisito relacionado à doença cardiovascular para oxigenoterapia suplementar diária,
- Histórico de qualquer hepatite crônica tal como evidenciado pelos seguintes:



- i) Teste positivo para antígeno de superfície da hepatite B,
- ii) Teste positivo para carga viral qualitativa da hepatite C (por reação em cadeia da polimerase [PCR]),
- Malignidades prévias (exceto câncer da pele não melanoma, e de bexiga *in situ*, gástrico, colorretal, endometrial, cervical/displasia, melanoma, ou cânceres de mama), a menos que a remissão completa foi alcançada em menos de 2 anos antes da entrada no estudo e nenhuma terapia adicional é necessária durante o período do estudo;
- Aloenxerto anterior de órgão ou transplante de medula óssea alogênica;
- Qualquer cirurgia grande dentro de 4 semanas do tratamento do estudo. Os participantes devem ter se recuperado dos efeitos de uma grande cirurgia ou lesão traumática significativa pelo menos 14 dias antes da primeira dose do tratamento em estudo;
- Todas as toxicidades atribuída a terapia anticâncer além da alopecia e fadiga devem ter voltado ao grau 1 (Critérios para eventos adversos da *National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events* [NCI CTCAE] v4.03) ou aos valores basais antes da administração do tratamento em estudo;
- É permitido o ingresso de participantes com toxicidade atribuída à terapia anticâncer prévia que não se resolvam e resultem em sequelas duradouras, como neuropatia após terapia à base de platina;
- Evidência de infecção descontrolada, ativa, exigindo

terapia parenteral antibacteriana, antiviral ou antifúngica  $\leq 7$  dias antes da administração da droga do estudo;

- Qualquer doença inflamatória GI não controlada, incluindo doença de Crohn e colite ulcerativa;
- Histórico conhecido de teste positivo para o vírus da imunodeficiência humana (HIV) ou síndrome da imunodeficiência adquirida (Teste de HIV deve ser realizado nos locais obrigatórios por exigências locais);
- Qualquer condição médica descontrolada ou transtorno psiquiátrico que, na opinião do investigador, represente um risco para a segurança do paciente ou interfira com a participação no estudo ou a interpretação dos resultados individuais do paciente;
- Doença gastrointestinal atual ou recente (dentro de 3 meses de administração da droga do estudo) que pode ter impacto sobre a absorção da droga do estudo;
- Transfusão concluída dentro de 72 horas antes da primeira dose de administração da droga do estudo;
- Cirurgia gastrointestinal que possa impactar a absorção da droga em estudo;
- Incapacidade de tolerar medicação oral;
- Impossibilidade de ter punção venosa e/ou tolerar o acesso venoso;
- Teste positivo para tuberculose latente (TB) na Triagem (por exemplo, T-SPOT ou Teste de Quantiferon) ou evidência de TB ativa;
- Exposição prévia ao tratamento prévio com regimes de anticorpos moduladores de células imunitárias, tais como,

mas não se limitando a, anticorpos anti-CSF1R, anti-DP-1, anti-PD-L1, anti PD-L- 2, anti-CTLA-4;

- Uma nova terapia anticâncer (por exemplo, quimioterapia, produtos biológicos, vacinas ou tratamento hormonal) incluindo medicamentos experimentais dentro de 4 semanas antes da primeira dose da administração do tratamento em estudo, exceto as terapias não citotóxicas, para as quais pelo menos 4 semanas ou 5 meias-vidas (o que for menor) devem ter decorrido entre a última dose e o primeiro tratamento com qualquer tratamento do estudo; se as meias-vidas forem inferiores a 4 semanas, é necessário obter confirmação com o Monitor Médico;
- Tratamentos com preparações botânicas (por exemplo, os suplementos à base de plantas, incluindo potenciais drogas de abuso, ou medicamentos tradicionais Chineses) destinados ao apoio geral de saúde ou para tratar a doença sob estudo dentro de 2 semanas antes da aleatorização/tratamento;
- Uso concomitante de estatinas durante o estudo. Entretanto, um paciente que use estatinas durante mais de 3 meses antes da administração da droga do estudo e em estado estável sem aumento de CK pode ser autorizado a entrar no estudo;
- Terapias de vacinas não oncológicas para a prevenção de doenças infecciosas (por exemplo, vacina contra o Papiloma Vírus Humano) dentro de 4 semanas da administração da droga do estudo. A vacina inativada contra a gripe sazonal pode ser administrada aos pacientes

antes do tratamento e durante a terapia sem restrição. Podem ser permitidas vacinas contra a gripe contendo vírus vivos ou outras vacinas clinicamente indicadas para doenças infecciosas (ou seja, pneumovax, varicela, etc.); mas deve ser discutido com o Monitor Médico do Patrocinador e pode necessitar de um período de limpeza da droga (*washout*) antes e após a administração da vacina;

- Pacientes com valores de bioquímica sérica anormais, que, na opinião do investigador são consideradas clinicamente significativas, serão excluídos do estudo. Isso inclui pacientes que mostram sinais e sintomas clínicos relacionados aos seus valores bioquímicos séricos anormais, bem como pacientes cujos valores bioquímicos séricos são assintomáticos, mas clinicamente significativos (por exemplo, hipocalcemia ou hiponatremia);
- Evidência de coagulopatia ou diátese hemorrágica;
- Ascites que necessitam de paracentese ou gerenciamento médico;
- Neuropatia periférica maior que grau 1 (para o braço B que recebe nab-paclitaxel);
- Albumina inferior a 3 g/dL;
- Evidência disfunção de órgãos ou qualquer desvio clinicamente significativa do normal em exame físico, sinais vitais, ECG, ou determinações laboratoriais clínicas além do que é consistente com a população alvo;
- Histórico conhecido de sensibilidade a infusões contendo *Tween 20* (polissorbato 20) e *Tween 80* (polissorbato 80);

- Histórico de alergia para tratamentos do estudo ou qualquer dos seus componentes do braço do estudo ao qual o participante é inscrito;
- Consumo de leite não pasteurizado durante o tratamento com a droga em estudo e durante 30 dias após a descontinuação da droga em estudo;
- Gravidez ou amamentação;
- Participantes que são obrigatoriamente detidos para tratamento de uma doença psiquiátrica ou física (por exemplo, doença infecciosa).

#### **EXEMPLO 7**

#### **DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE PACIENTES RESPONSIVOS E NÃO RESPONSIVOS**

#### **TRATADOS COM CABIRALIZUMABE E NIVOLUMABE**

[1058] As coortes de paciente para um escalonamento de dose e expansão dose de estudo de Fase Ia/Ib de cabiralizumabe e nivolumabe, tal como descrito nos Exemplos 3 e 4, são mostradas na Fig. 6A e Fig. 6B. Os resultados iniciais mostraram que a combinação era tolerável com evidências preliminares de benefício clínico durável em pacientes altamente pré-tratados com câncer pancreático MSS avançado. (Consulte Wainberg, Z.A., *et al. J. Immunother. Cancer* 5 (suppl 3): Resumo O42 (2017)). Este exemplo resume uma caracterização adicional dos pacientes tratados no estudo clínico.

[1059] A carga de mutação tumoral (TMB) foi medida em pacientes tratados durante a fase de expansão de dose pela análise da sequência exômica completa de amostras de biópsia de arquivamento ou frescas. A Figura 7 mostra a TMB em pacientes tratados durante a fase de expansão, discriminados por tipo de tumor: glioma, SCCHN, NSCLCn (*naïves* para NSCLC PD-1), NSCLCr (NSCLC *de novo* ou resistência adquirida), câncer de ovário, pancreático e renal. A análise genômica da carga de mutação

tumoral foi realizada em 94 pacientes. Como mostrado na Figura 7, quase todos os pacientes tinham uma TMB baixa, conforme designado pela seta mostrada à esquerda do eixo y do gráfico, que marca um nível de TMB de 200 mutações *missense* totais, determinadas pelo sequenciamento total do exoma (WES), o qual é equivalente a uma TMB de 10 mutações/megabase determinada pelo ensaio *Foundation One*® *CDx*® (Medicine Foundation, Inc.). A equivalência foi determinada medindo o número de mutações usando os dois métodos em algumas das mesmas amostras. A maioria dos pacientes também teve uma TMB inferior a 10 mutações por megabase pelo ensaio *Foundation One*®, conforme designado pela seta mostrada à esquerda do eixo y. 91 dos 94 pacientes tiveram uma TMB baixa inferior a 10 mutações por megabase por esse ensaio. Todos, exceto um desses pacientes, tinham um tumor estável para microssatélites. Quatro pacientes com câncer pancreático incluídos na análise que responderam ao tratamento combinado tinham TMB baixa e também eram MSS, um fenótipo que historicamente não demonstra benefício com a terapia anti-PD-1/PD-L1.

[1060] Alterações nas concentrações periféricas de CSF-1 e IL-34 foram medidas por ELISA, e são mostradas na Fig. 8A. As alterações nos níveis de monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> (ou CD14<sup>DIM</sup> CD16<sup>BRIGHT</sup>) periféricos foram medidas por citometria de fluxo, e estão mostradas na Fig. 8B. Ambos foram analisados em pacientes tratados com 1, 2, 4 ou 6 mg/kg de cabiralizumabe mais 3 mg/kg de novolumabe Q2W. Um aumento semelhante dependente da dose na IL-34 foi observado em pacientes no esquema Q2W (dados não mostrados). Como mostrado na Fig. 8B, foi observada uma depleção durável de monócitos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> não clássicos em pacientes tratados com pelo menos 4 mg/kg de cabiralizumabe e 3 mg/kg de nivolumabe.

[1061] As Figs. 9A e 9B mostram uma comparação de pacientes em um regime de dosagem Q2W e Q3W em relação aos níveis de monócitos

de CSF-1 e monócitos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> não clássicos. Como mostrado na Fig. 9A, os aumentos de CSF-1 foram semelhantes nos dois esquemas de dosagem. Mas, como mostrado na Fig. 9B, os monócitos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> não clássicos diminuíram consistentemente no regime Q2W, mas variaram no regime Q3W.

[1062] A expressão de biomarcadores periféricos e tumorais foi medida no nível da proteína por imuno-histoquímica (IHQ) ou na análise transcriptômica por RNA em pacientes que receberam 4 mg/kg de cabiralizumabe mais 3 mg/kg de nivolumabe Q2W durante a expansão da dose. As análises de IHQ e transcriptoma foram realizadas usando biópsias de pré-tratamento (basais) e pós-tratamento (aproximadamente após 4 semanas de tratamento; ou duas doses).

[1063] Os níveis de CSF1R e CD163 foram medidos por IHQ e ambos mostraram reduções acentuadas desde o início com o tratamento com cabiralizumabe mais nivolumabe. Por exemplo, após 4 semanas de tratamento, os níveis de proteína CSF1R determinados por IHQ diminuíram a partir do basal em 76% dos 51 pacientes amostrados com uma alteração mediana a partir do basal -60% ( $P = 0,0089$ ), os níveis de proteína CD163 determinados por IHQ diminuíram a partir do basal em 59% dos 51 pacientes amostrados, com uma diminuição mediana de -43% ( $P = 0,207$ ), e os níveis de proteína CD68 determinados por IHQ diminuíram a partir do basal em 60% dos 52 pacientes amostrados, com uma diminuição mediana de -16% ( $P = 0,263$ ). Por outro lado, aumentos na expressão de CSF1R, CD163 e/ou CD68 de até 200% foram observados em 5, 7 e 6 pacientes, respectivamente. (Veja a Fig. 12 para um gráfico desses dados.) A coloração por IHQ de amostras de biópsia basais e em tratamento também mostrou diminuições nos macrófagos CSF1R<sup>+</sup> no epitélio tumoral em sujeitos com câncer de ovário e pancreático (não mostrada). Os níveis de células T efetoras também aumentaram nos tumores de pacientes tratados em comparação com os

níveis basais em uma mediana de 38% (de 52 pacientes;  $P = 0,029$ ), com 58% dos pacientes mostrando um aumento nos níveis de células T efectoras, com base na medição por IHQ de CD8. (Veja a Fig. 13 para um gráfico desses dados.)

[1064] Os níveis de expressão de RNA de uma variedade de marcadores, incluindo marcadores relacionados ao CSF1R (CSF-1, CSF1R, e IL-34), marcadores pró-inflamatórias (CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFN $\gamma$ , IL23A, STAT1 e TNF) e marcadores anti-inflamatórios (ARG1, C5AR1, CD14, CD163, CXCR1, CXCR2, IL1A, IL1RN, IL8, MRC1, MSR1, PF4, PPBP, S100A12, S100A8, SAA1, e TGFB1) foram avaliados por análise de transcriptoma, como mostrado nas Figs. 10 A-B. São mostradas alterações nos níveis de expressão de RNA dos marcadores para respondedores (Fig. 10 A) e não respondedores (Fig. 10 B). Em geral, não foram encontradas alterações significativas nos níveis de expressão de marcadores em não respondedores, enquanto aumentos significativos na expressão de CSF-1 e IL-34 e marcadores pró-inflamatórios foram observados nos respondentes de cabiralizumabe e nivolumabe. Os níveis de marcadores de células B (CD72, CD79A, CD79B, MS4A1, TNFRSF17), marcadores de células T CD8 (CD3D, CD8A, CD8B), marcadores de células T efectoras ( $T_{eff}$ ) citolíticas (GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7, PRF1) e marcadores de receptor inibidor de  $T_{eff}$  (BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT, FOXP3) também foram avaliados pelo nível de RNA por análise de transcriptoma, como mostrado nas Figs. 11A (respondedores) e 11B (não respondedores). Da mesma forma, aumentos significativos na expressão das células T CD8 e dos marcadores de células T efectoras citolíticas e inibidores dos receptores foram observados em pacientes que responderam ao cabiralizumabe mais nivolumabe (Fig. 11A), enquanto não foram observadas alterações significativas nos não respondedores (Fig. 11B).

[1065] Estas análises demonstraram um bloqueio CSF1R mediada



por cabiralizumabe na periferia e no microambiente tumoral em pacientes com câncer avançado tratados com pelo menos 4 mg/kg cabiralizumabe e com 3 mg/kg nivolumabe Q2W, como os níveis circulantes de CSF-1 aumentaram e os níveis de monócitos não clássicos diminuíram, enquanto nos tumores os níveis de CSF1R, CD163 e CD68 diminuíram e os níveis de células T efectoras (medidos por CD8) aumentaram. As respostas farmacodinâmicas baseadas em tumor com a combinação foram consistentes com o mecanismo de ação do cabiralizumabe e correlacionadas com o aumento da expressão de genes que promovem um microambiente tumoral pró-inflamatório. Além disso, a maioria dos pacientes na análise apresentava TMB baixas, que normalmente não respondem ao tratamento com nivolumabe em monoterapia.

[1066] Como resumo deste exemplo, a atividade farmacodinâmica do cabiralizumabe mais nivolumabe em pacientes com tumores avançados tratados em um estudo de fase 1a/b (NCT02526017) foi avaliada usando biomarcadores tumorais e periféricos. Os aumentos no CSF-1 sérico e reduções nos monócitos não clássicos periféricos associados ao cabiralizumabe mais nivolumabe foram mantidos durante um intervalo de dose de 2 semanas. A análise das biópsias por IHQ pré-tratamento e durante o tratamento entre tipos de tumor mostrou aumentos nos infiltrados de células T CD8 e diminuições nos marcadores de macrófagos CSF1R e CD163. Os transcriptomas de biópsias pareadas mostraram assinaturas aumentadas de CD8 e de genes citolíticos, com expressão simultânea aumentada de genes associados a macrófagos M1, apoiando o bloqueio de respostas M2 conduzidas pelo CSF1R. As análises genômicas demonstraram que 91 de 94 pacientes apresentavam baixa carga de mutação tumoral (TMB) abaixo de 10 mutações/megabase, conforme determinado com o ensaio *Foundation One*<sup>®</sup> CDx<sup>®</sup> (ou menos de 200 mutações *missense* totais, conforme determinado por WES), com apenas 1 paciente com instabilidade de microssatélites. As respostas ao tratamento foram observadas em todos os

tipos tumorais. Em 4 respostas parciais observadas em pacientes com câncer pancreático, todas eram estáveis para microssatélites (MSS) e apresentavam baixa TMB. As análises ortogonais de IHQ e transcriptoma demonstraram o bloqueio de CSF1R mediado por cabiralizumabe na periferia e microambiente tumoral em pacientes com câncer avançado. Esses dados apoiam o desenvolvimento clínico adicional do cabiralizumabe mais nivolumabe em múltiplas indicações, incluindo o câncer pancreático MSS (consulte NCT03336216).

**LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS**

A Tabela 11 fornece algumas sequências discutidas na presente invenção. Todas as sequências de polipeptídeo e anticorpo são exibidas sem as sequências líderes, a menos que esteja indicado de outra forma.

**TABELA 11****SEQUÊNCIAS E DESCRIÇÕES**

SEQ ID NO	Descrição	Sequência
1	hCSF1R (completo, sem sequência líder)	IPVIEPSVPE LVVKPGATVT LRCVGNNGSVE WDGPPSPHWT LYSDGSSSIL STNNATFQNT GTYRCTEPGD PLGGSAAIHL YVKDPAWPWN VLAQEVVVFE DQDALLPCLL TDPVLEAGVS LVRVRGRPLM RHTNYSFSPW HGFTIHRAKF IQSQDYQCSA LMGGRKVMSI SIRLKVQKVI PGPPALTLVP AELVRIRGEA AQIVCSASSV DVNFDVFLQH NNTKLAIPQQ SDFHNNRYQK VLTNLNDQVD FQHAGNYSCV ASNVQKGKST SMFFRVVESA YLNLSSSEQNL IQEVTVGEGE NLKVMVEAYP GLQGFNWTYL GPFSHQPEP KLANATTKDT YRHTFTLSLP RLKPSEAGRY SFLARNPGGW RALTFELTLR YPPEVSVIWT FINGSGTLLC AASGYPQPNV TWLQCSGHTD RCDEAQLVQV WDDPYPEVLS QEPFHKVTQV SLLTVETLEH NQTYECRAHN SVSGSWAFI PISAGATHP PDEFLLTPVV VACMSIMALL LLLLLLLLYK YKQKPKYQVR WKIIESYEGN SYTFIDPTQL PYNEKWEFPR NNLQFGKTLG AGAFGKVVEA TAFGLGKEDA VLKVAVKMLK STAHADKEA LMSELKIMSH LGQHENIVNL LGACTHGGPV LVITEYCCYG DLLNFLRRKA EAMLGPSLSP QDPEGGVDY KNIHLEKKYV RRDSGFSSQG VDTYVEMRPV STSSNDSFSE QDLKEDGRP LELRDLLHFS SQVAQGMAFL ASKNCIHRDV AARNVLLTNG HVAKIGDFGL ARDIMNDSNY IVKGNARLPV KWMAPESIFD CVYTVQSDVW SYGILLWEIF SLGLNPYPGI LVNSKFYKLV KDGQMAQPA FAPKNIYSIM QACWALEPTH RPTFQQICSF LQEQAQEDRR ERDYNLPSS SRSGSGSSSS SELEEESSSE HLTCEQGGDI AQPLLQPNNY QFC
2	hCSF1R (completo, + sequência líder)	MGPVGLLLLL VATAWHGQGI PVIEPSVPEL VVKPGATVTL RCVGNNGSVEW DGPSPHWTLY YSDGSSSILS TNNATFQNTG TYRCTEPGDP LGGSAAIHL YVKDPAWPWNV LAQEVVVFE DQDALLPCLLT DPVLEAGVSL VRVRGRPLMR HTNYSFSPWH GFTIHRAKFI QSQDYQCSAL MGGRKVMSS IRLKVQKVIP GPPALTLVPA ELVRIRGEAA QIVCSASSVD VNFDFVLQHN NTKLAIPQQS DFHNNRYQKV LTLNLNDQVD FQHAGNYSCVA SNVQKGKST SMFFRVVESAY LNLSSSEQNLI QEVTVGEGE NLKVMVEAYPG LQGFNWTYLG PFSDHQPEPK LANATTKDTY RHTFTLSLPR LKPSEAGRYS FLARNPGGWR ALTFELTLRY PPEVSVIWT FINGSGTLLCA ASGYPQPNVT WLQCSGHTDR CDEAQLVQVW DDPYPEVLSQ EPFHKVTQVS LLTVETLEHN QTYECRAHNS VGSGSWAFIP ISAGATHPP DEFLLTPVVV ACMSIMALL LLLLLLLLYK YKQKPKYQVRW KIIESYEGNS YTFIDPTQL PYNEKWEFPR NNLQFGKTLGA GAFGKVVEAT AFGLGKEDAV LKVAVKMLKS TAHADKEAL MSELKIMSH LGQHENIVNL GACTHGGPV LVITEYCCYG DLLNFLRRKAE AMLGPSLSP QDPEGGVDYK NIHLEKKYVR RDSGFSSQGV DTYVEMRPVS TSSNDSFSEQ DLDKEDGRPL ELRDLLHFSS QVAQGMAFLA SKNCIHRDVA ARNVLLTNGH VAKIGDFGLA RDIMNDSNYI VKNARLPV KWMAPESIFD CVYTVQSDVWS YGILLWEIFS LGLNPYPGIL VNSKFYKLVK DGYQMAQPAF APKNIYSIMQ ACWALEPTHR PTFQQICSF LQEQAQEDRR ERDYNLPSS SRSGSGSSSS SELEEESSSEH LTCCEQGGDI AQPLLQPNNY QFC
3	Cadeia leve de anticorpo sequência líder	METDTLLLWV LLLWVPGSTG

SEQ ID NO	Descrição	Sequência
4	Cadeia pesada de anticorpo sequência líder	MAVLGLLLCL VTFPSCVLS
5	Cabiralizumabe; CDR1 de cadeia pesada	GYTFTDNYMI
6	Cabiralizumabe; CDR2 de cadeia pesada	DINPYNGGTT FNQKFKG
7	Cabiralizumabe; CDR3 de cadeia pesada	ESPYFSNLYV MDY
8	Cabiralizumabe; CDR1 de cadeia leve	KASQSVDDYDG DNYMN
9	Cabiralizumabe; CDR2 de cadeia leve	AASNLES
10	Cabiralizumabe; CDR3 de cadeia leve	HLSNEDLST
11	Cabiralizumabe; Região variável de cadeia pesada	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFT DNYMIWVRQA PGQGLEWMGD INPYNGGTTF NQKFKGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARES PYFSNLYVMD YWGQGTLLTV SS
12	Cabiralizumabe; Região variável de cadeia leve	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCKASQSVD YDGDNYMNWY QKPGQAPRL LIYAASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCHLSNEDLS TFGGGTKVEI K
13	Cabiralizumabe; Cadeia pesada	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFT DNYMIWVRQA PGQGLEWMGD INPYNGGTTF NQKFKGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARES PYFSNLYVMD YWGQGTLLTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTPSSSLGT KTYTCNVDPK PSNTKVDKRV ESKYGPPCPP CPAPEFLGGP SVFLFPPKPK DTLNISRTPE VTCVVDVSQ EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLGK

SEQ ID NO	Descrição	Sequência
14	Cabiralizumabe; Cadeia leve	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCKASQSVD YDGDNYMNWY QQKPGQAPRL LIYAASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCHLSNEDLS TFGGGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
15	CSF1 Humano	EEVSEYCSHM IGSGLHLSLQ RLIDSQMETS CQITFEFVDQ EQLKDPVCYL KKAFLLVQDI MEDTMRFRDN TPNAIAIVQL QELSLRLKSC FTKDYEEHDK ACVRTFYETP LQLLEKVKNV FNETKNLLDK DWNIFSKNCN NSFAECSSQG HERQSEGS
16	IL-34 humano	NEPLEMWPLT QNEECTVTGF LRDKLQYRSR LQYMKHYFPI NYKISVPYEG VFRIANVTRL QRAQVSEREL RYLWVLVLSLATESVQDVLL EGHPSWKYLQ EVQTLNLLNVQ QGLTDVEVSP KVESVLSLLN APGPNLKLVR PKALLDNCFR VMELLYCSCC KQSSVLNWQD CEVPSPQSCS PEPSLQYAAT QLYPPPPWSP SSPPHSTGSV RPVRAQGEGL LP
17	IgG4 S241P humano	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRVES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK
18	Igk humano	RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLL NNFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSL TLTLKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVT KSFNRGEC
19	Precursor de PD-1 humano (com seq. sinal) UniProtKB/Swiss-Prot: Q15116.3, 01/10/2014	MQIPQAPWPV VWAVLQLGWR PGWFLDSPDR PWNPTTFSPA LLVVTEGDNA TFTCSFSNTS ESFVLNWYRM SPSNQTDKLA AFPEDRSQPG QDCRFRVTQL PNGRDFHMSV VRARRNDSGT YLCGAISLAP KAQIKESLRA ELRVTERRAE VPTAHPSPSP RPAGQFQTLV VGVVGGLLGS LVLLVWVLAV ICSRAARGTI GARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW REKTPEPPVP CVPEQTEYAT IVFPSGMGTS SPARRGSADG PRSAQPLRPE DGHCSWPL
20	PD-1 humano (maduro, sem sequência sinal)	PGWFLDSPDR PWNPTTFSPA LLVVTEGDNA TFTCSFSNTS ESFVLNWYRM SPSNQTDKLA AFPEDRSQPG QDCRFRVTQL PNGRDFHMSV VRARRNDSGT YLCGAISLAP KAQIKESLRA ELRVTERRAE VPTAHPSPSP RPAGQFQTLV VGVVGGLLGS LVLLVWVLAV ICSRAARGTI GARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW REKTPEPPVP CVPEQTEYAT IVFPSGMGTS SPARRGSADG PRSAQPLRPE DGHCSWPL

SEQ ID NO	Descrição	Sequência
21	Precursor de PD-L1 humano (com seq. sinal) UniProtKB/Swiss-Prot: Q9NZQ7.1, 01/10/2014	MRIFAVFIFM TYWHLLNAFT VTPPKDLYVV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS YRQRARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV NAPYNKINQR ILVVDPTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTSLRIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEVPELP LAHPPNERH LVILGAILLC LGVALTFIFR LRKGRMMDVK KCGIQDTNSK KQSDTHLEET
22	PD-L1 Humano (maduro, sem sequência sinal)	FT VTPPKDLYVV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS YRQRARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV NAPYNKINQR ILVVDPTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTSLRIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEVPELP LAHPPNERH LVILGAILLC LGVALTFIFR LRKGRMMDVK KCGIQDTNSK KQSDTHLEET
23	Região variável de cadeia pesada do Nivolumabe	QVQLVESGGGVVQPGRLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAP GKGLEWVAVIWDGSKRYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMN SLRAEDTAVYYCATNDYWGQGLTVTVSS
24	Região constante de cadeia pesada do Nivolumabe	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGKTYTCNV HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
25	Região variável de cadeia leve do Nivolumabe	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQA PRLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYC QQSSNWPRTFGQGTKVEIK
26	Região constante de cadeia leve do Nivolumabe	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
27	FR1 Região variável de cadeia pesada do Nivolumabe	QVQLVESGGGVVQPGRLRLDCKASGITFS

SEQ ID NO	Descrição	Sequência
28	CDR1 de cadeia pesada do Nivolumabe	NSGMH
29	FR2 de cadeia pesada do Nivolumabe	WVRQAPGKGLEWVA
30	CDR2 de cadeia pesada do Nivolumabe	VIWYDGSKRYYADSVKG
31	FR3 de cadeia pesada do Nivolumabe	RFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCAT
32	CDR3 de cadeia pesada do Nivolumabe	NDDY
33	FR4 de cadeia pesada do Nivolumabe	WGQGTLVTVSS
34	FR1 de cadeia leve do Nivolumabe	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC
35	CDR1 de cadeia leve do Nivolumabe	RASQSVSSYLA
36	FR2 de cadeia leve do Nivolumabe	WYQQKPGQAPRLLIY
37	CDR2 de cadeia leve do Nivolumabe	DASNRAT
38	FR3 de cadeia leve do Nivolumabe	GIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYC

SEQ ID NO	Descrição	Sequência
39	CDR3 de cadeia leve do Nivolumabe	QQSSNWPRT
40	FR4 de cadeia leve do Nivolumabe	FGQGTKVEIK



### **REIVINDICAÇÕES**

1. MÉTODO PARA TRATAR O CÂNCER PANCREÁTICO em um sujeito, caracterizado por compreender a administração ao sujeito de 4 mg/kg de um anticorpo anti-CSF1R e 3 mg/kg de um anticorpo anti-PD-1, em que os anticorpos são administrados uma vez a cada duas semanas;

em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo uma região 1 determinante da complementaridade (CDR1) de cadeia pesada (HC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 5, uma CDR2 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 6 e uma CDR3 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 7; e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 8, uma CDR2 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 9 e uma CDR3 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 10; e

em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 28, uma CDR2 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 30 e uma CDR3 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 32; e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 35, uma CDR2 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 37 e uma CDR3 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 39.

2. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R ser um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>.

3. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 ser um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>.

4. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pela cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 compreender uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO:

23; e a cadeia leve do anticorpo anti-PD-1 compreender uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 25.

5. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 4, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 compreender uma cadeia pesada compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 23 e 24; e o anticorpo anti-PD-1 compreender uma cadeia leve compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 25 e 26.

6. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1, 2, 4 ou 5, caracterizado pelo anticorpo anti-DP-1 ser nivolumabe ou pembrolizumabe ou PDR001.

7. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 ou de 3 a 6, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R compreender uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 11; e compreende o anticorpo anti-CSF1R compreender uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 12.

8. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 ou de 3 a 7, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R compreender uma cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 13; e compreende o anticorpo anti-CSF1R compreender uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 14.

9. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 ou de 3 a 8, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R ser cabiralizumabe.

10. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 ser administrado ao sujeito antes do anticorpo anti-CSF1R.

11. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R ser administrado de 30 minutos a 120 minutos após o inibidor de PD-1.

12. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 ser infundido durante um período de 30-60 minutos; e o anticorpo anti-CSF1R ser infundido durante um período de 30-60 minutos.

13. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pela infusão do anticorpo anti-CSF1R ser iniciada de 30-120 minutos após o final da infusão do anticorpo anti-PD-1.

14. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 13, caracterizado pela infusão do anticorpo anti-CSF1R ser iniciada de 30-60 minutos (por exemplo, 30 minutos) após o final da infusão do anticorpo anti-PD-1.

15. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo sujeito ter o tratamento fracassado anteriormente com uma terapia padrão para o câncer pancreático ou para o qual não é indicado o tratamento com uma terapia padrão.

16. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo sujeito ter recebido anteriormente uma terapia inibidora de PD-1/PD-L1.

17. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo sujeito ser um respondedor inadequado ao inibidor de PD-1/PD-L1.

18. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 16 ou 17, caracterizado pelo sujeito ser refratário para um inibidor de PD-1/PD-L1, por exemplo, após pelo menos 2 doses.

19. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo sujeito ter um adenocarcinoma de pâncreas localizado.

20. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 18, caracterizado pelo sujeito ter um adenocarcinoma de pâncreas metastático.

21. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações

anteriores, caracterizado pelo sujeito não ter pancreatite ativa ou ascite de grau 2 ou superior.

22. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo(s) tumor(es) de pâncreas do sujeito ser(serem) PD-L1 positivo(s).

23. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo sujeito ter redução dos monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> circulantes após pelo menos uma dose de cada um dos anticorpos anti-CSF1R e anti-PD-1.

24. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelos monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> reduzirem para contagens abaixo de 10 monócitos por microlitro de sangue periférico dentro de 3 dias após uma primeira dose de cada anticorpo, anti-CSF1R e anti-PD-1, e permanecerem abaixo de 10 monócitos por microlitro de sangue periférico por pelo menos mais 10 dias.

25. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo sujeito ter câncer pancreático avançado.

26. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo câncer ter sido determinado como sendo de microssatélites-estáveis (MSS) e/ou ter sido determinado como tendo uma carga de mutação tumoral (TMB) menor do que 20 mutações/megabase, menor do que 15 mutações/megabases, ou menor do que 10 mutações/megabases, tal como determinado pelo ensaio *FoundationOne*<sup>®</sup> CDx<sup>®</sup> (F1CDx), e/ou o câncer foi determinado como tendo uma TMB com menos de 400, com menos de 300 ou com menos de 200 mutações *missense*, conforme determinado pelo sequenciamento total do exoma (WES).

27. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo câncer pancreático do sujeito ter progredido após

pelo menos um regime de quimioterapia baseado em gencitabina ou baseado em 5-fluorouracila.

28. MÉTODO PARA TRATAR O CÂNCER PANCREÁTICO em um sujeito, caracterizado por compreender a administração ao sujeito de 2, 3, ou 4 mg/kg de um anticorpo anti-CSF1R uma vez a cada duas semanas e 400-600 mg de um anticorpo anti-DP-1 uma vez a cada quatro semanas;

em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 5, uma CDR2 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 6 e uma CDR3 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 7; e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 8, uma CDR2 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 9 e uma CDR3 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 10; e

em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 28, uma CDR2 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 30 e uma CDR3 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 32; e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 35, uma CDR2 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 37 e uma CDR3 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 39.

29. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo sujeito ser administrado com 4 mg/kg do anticorpo anti-CSF1R uma vez a cada duas semanas e 450-500 mg o anticorpo anti-PD-1 uma vez a cada quatro semanas.

30. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo sujeito ser administrado com 4 mg/kg do anticorpo anti-CSF1R uma vez a cada duas semanas e 480 mg o anticorpo anti-PD-1 uma vez a cada quatro semanas.

31. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 28 a 30, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R ser um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>.

32. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 28 a 30, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 ser um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>.

33. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 28 a 31, caracterizado pela cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 compreender uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 23; e a cadeia leve do anticorpo anti-PD-1 compreender uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 25.

34. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 28 a 31, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 compreender uma cadeia pesada compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 23 e 24; e o anticorpo anti-PD-1 compreender uma cadeia leve compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 25 e 26.

35. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 28 a 31, 33 ou 34, caracterizado pelo o anticorpo anti-PD-1 ser nivolumabe.

36. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 28 a 30 ou de 32 a 35, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R compreender uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 11; e compreende o anticorpo anti-CSF1R compreender uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 12.

37. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 28 a 30 ou de 32 a 35, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R compreender uma cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO:

13; e compreende o anticorpo anti-CSF1R compreender uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 14.

38. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 28 a 30 ou de 32 a 37, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R ser cabiralizumabe.

39. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 28 a 38, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 ser infundido durante um período de 30-60 minutos; e o anticorpo anti-CSF1R ser infundido durante um período de 30-60 minutos.

40. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 28 a 39, caracterizado pelo sujeito ter o tratamento fracassado anteriormente com uma terapia padrão para o câncer pancreático ou para o qual não é indicado o tratamento com uma terapia padrão.

41. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 28 a 40, caracterizado pelo sujeito ter recebido anteriormente uma terapia inibidora de PD-1/PD-L1.

42. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 41, caracterizado pelo sujeito ser um respondedor inadequado ao inibidor de PD-1/PD-L1.

43. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 41 ou 42, caracterizado pelo sujeito ser refratário para um inibidor de PD-1/PD-L1, por exemplo, após pelo menos 2 doses.

44. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 28 a 43, caracterizado pelo sujeito ter um adenocarcinoma de pâncreas localizado.

45. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 28 a 43, caracterizado pelo sujeito ter um adenocarcinoma de pâncreas metastático.

46. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações

de 28 a 45, caracterizado pelo sujeito não ter pancreatite ativa ou ascite de grau 2 ou superior.

47. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 28 a 46, caracterizado pelo(s) tumor(es) de pâncreas do sujeito ser(serem) PD-L1 positivo(s).

48. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 28 a 47, caracterizado pelo sujeito ter redução dos monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> circulantes após pelo menos uma dose de cada um dos anticorpos anti-CSF1R e anti-PD-1.

49. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 48, caracterizado pelos monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> reduzirem para contagens abaixo de 10 monócitos por microlitro de sangue periférico dentro de 3 dias após uma primeira dose de cada anticorpo, anti-CSF1R e anti-PD-1, e permanecerem abaixo de 10 monócitos por microlitro de sangue periférico por pelo menos mais 10 dias.

50. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 28 a 49, caracterizado pelo sujeito ter câncer pancreático avançado.

51. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 28 a 50, caracterizado pelo câncer ter sido determinado como sendo de microssatélites-estáveis (MSS) e/ou ter sido determinado como tendo uma carga de mutação tumoral (TMB) menor do que 20 mutações/megabase, menor do que 15 mutações/megabases, ou menor do que 10 mutações/megabases, tal como determinado pelo ensaio F1CDx<sup>®</sup>, e/ou o câncer foi determinado como tendo uma TMB com menos de 400, com menos de 300 ou com menos de 200 mutações *missense*, conforme determinado por WES.

52. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 28 a 51, caracterizado pelo câncer pancreático do sujeito ter progredido



após pelo menos um regime de quimioterapia baseado em gencitabina ou baseado em 5-fluorouracila.

53. MÉTODO PARA TRATAR O CÂNCER PANCREÁTICO em um sujeito, caracterizado por compreender a administração ao sujeito de 2, 3, ou 4 mg/kg de um anticorpo anti-CSF1R uma vez a cada duas semanas e 400-600 mg de um anticorpo anti-PD-1 uma vez a cada quatro semanas em combinação com quimioterapia compreendendo gemcitabina ou 5-fluorouracila (5-FU);

em que o anticorpo anti-CSF1R compreende uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 5, uma CDR2 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 6 e uma CDR3 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 7; e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 8, uma CDR2 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 9 e uma CDR3 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 10; e

em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 28, uma CDR2 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 30 e uma CDR3 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 32; e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 35, uma CDR2 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 37 e uma CDR3 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 39.

54. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 53, caracterizado pelo sujeito ser administrado com 4 mg/kg do anticorpo anti-CSF1R uma vez a cada duas semanas e 450-500 mg o anticorpo anti-PD-1 uma vez a cada quatro semanas.

55. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 54, caracterizado pelo sujeito ser administrado com 4 mg/kg do anticorpo anti-CSF1R uma vez a

cada duas semanas e 480 mg o anticorpo anti-PD-1 uma vez a cada quatro semanas.

56. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 55, caracterizado pelo sujeito ter recebido quimioterapia compreendendo a gemcitabina e nab-paclitaxel.

57. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 55, caracterizado pelo sujeito ter recebido quimioterapia que compreende 5-FU, leucovorina e irinotecano lipossômico.

58. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 55, caracterizado pelo sujeito ter recebido quimioterapia compreendendo FOLFOX.

59. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 58, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R ser um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>.

60. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 58, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 ser um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>.

61. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 59, caracterizado pela cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 compreender uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 23; e a cadeia leve do anticorpo anti-PD-1 compreender uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 25.

62. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 59, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 compreender uma cadeia pesada compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 23 e 24; e o anticorpo anti-PD-1 compreender uma cadeia leve compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 25 e 26.

63. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 59, 61 ou 62, caracterizado pelo o anticorpo anti-PD-1 ser nivolumabe, pembrolizumabe ou PDR001.

64. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 58 ou de 60 a 63, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R compreender uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 11; e compreende o anticorpo anti-CSF1R compreender uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 12.

65. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 58 ou de 60 a 63, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R compreender uma cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 13; e compreende o anticorpo anti-CSF1R compreender uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 14.

66. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 58 ou de 60 a 65, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R ser cabiralizumabe.

67. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 66, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 ser infundido durante um período de 30-60 minutos; e o anticorpo anti-CSF1R ser infundido durante um período de 30-60 minutos.

68. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 67, caracterizado pelo sujeito ter o tratamento fracassado anteriormente com uma terapia padrão para o câncer pancreático ou para o qual não é indicado o tratamento com uma terapia padrão.

69. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 58, caracterizado pelo sujeito ter recebido anteriormente uma terapia inibidora de PD-1/PD-L1.

70. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 69, caracterizado pelo sujeito ser um respondedor inadequado ao inibidor de PD-1/PD-L1.

71. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 69 ou 70, caracterizado pelo sujeito ser refratário para um inibidor de PD-1/PD-L1, por exemplo, após pelo menos 2 doses.

72. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 71, caracterizado pelo sujeito ter um adenocarcinoma de pâncreas localizado.

73. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 71, caracterizado pelo sujeito ter um adenocarcinoma de pâncreas metastático.

74. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 73, caracterizado pelo sujeito não ter pancreatite ativa ou ascite de grau 2 ou superior.

75. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 74, caracterizado pelo(s) tumor(es) de pâncreas do sujeito ser(serem) PD-L1 positivo(s).

76. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 75, caracterizado pelo sujeito ter redução dos monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> circulantes após pelo menos uma dose de cada um dos anticorpos anti-CSF1R e anti-PD-1.

77. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 76, caracterizado pelos monócitos não clássicos CD14<sup>+</sup> CD16<sup>++</sup> reduzirem para contagens abaixo de 10 monócitos por microlitro de sangue periférico dentro de 3 dias após uma primeira dose de cada anticorpo, anti-CSF1R e anti-PD-1, e permanecerem abaixo de 10 monócitos por microlitro de sangue periférico por pelo menos mais 10 dias.

78. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações

de 53 a 77, caracterizado pelo sujeito ter câncer pancreático avançado.

79. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 78, caracterizado pelo câncer ter sido determinado como sendo de microssatélites-estáveis (MSS) e/ou ter sido determinado como tendo uma carga de mutação tumoral (TMB) menor do que 20 mutações/megabase, menor do que 15 mutações/megabases, ou menor do que 10 mutações/megabases, tal como determinado pelo ensaio F1CDx<sup>®</sup>, e/ou o câncer foi determinado como tendo uma TMB com menos de 400, com menos de 300 ou com menos de 200 mutações *missense*, conforme determinado por WES.

80. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 53 a 79, caracterizado pelo câncer pancreático do sujeito ter progredido após pelo menos um regime de quimioterapia baseado em gencitabina ou baseado em 5-fluorouracila.

81. MÉTODO PARA TRATAR O CÂNCER em um sujeito, caracterizado por compreender a administração ao sujeito de um anticorpo anti-CSF1R e um anticorpo anti-DP-1, em que o câncer foi determinado como sendo estável para microssatélites (MSS) e/ou foi determinado como possuindo uma TMB inferior a 20, inferior a 15 ou inferior a 10 mutações/megabase pelo ensaio F1CDx<sup>®</sup> e/ou menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações *missense* por WES.

82. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 81, caracterizado pelo câncer ter sido determinado (i) como sendo MSS e (ii) com uma TMB inferior a 20, inferior a 15 ou inferior a 10 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio F1CDx<sup>®</sup> e/ou foi determinado com uma TMB com menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações *missense* conforme determinado por WES.

83. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 81 ou 82,

caracterizado pelo câncer ter sido determinado com uma TMB com menos de 15 mutações/megabases, tal como determinado pelo ensaio F1CDx, e/ou o câncer foi determinado com uma TMB com menos de 300 mutações *missense*, conforme determinado por WES.

84. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 81 ou 82, caracterizado pelo câncer ter sido determinado com uma TMB com menos de 10 mutações/megabases, tal como determinado pelo ensaio F1CDx, e/ou o câncer foi determinado com uma TMB com menos de 200 mutações *missense*, conforme determinado por WES.

85. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 81 a 84, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R compreender uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 5, uma CDR2 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 6 e uma CDR3 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 7; e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 8, uma CDR2 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 9 e uma CDR3 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 10; e

em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 28, uma CDR2 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 30 e uma CDR3 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 32; e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 35, uma CDR2 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 37 e uma CDR3 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 39.

86. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 81 a 85, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R ser um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>.

87. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações

de 81 a 86, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 ser um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>.

88. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 81 a 86, caracterizado pela cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 compreender uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 23; e a cadeia leve do anticorpo anti-PD-1 compreender uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 25.

89. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 81 a 86, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 compreender uma cadeia pesada compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 23 e 24; e o anticorpo anti-PD-1 compreender uma cadeia leve compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 25 e 26.

90. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 81 a 86, caracterizado pelo o anticorpo anti-PD-1 ser nivolumabe, pembrolizumabe ou PDR001.

91. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 81 a 90, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R compreender uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 11; e compreende o anticorpo anti-CSF1R compreender uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 12.

92. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 81 a 85 ou de 87 a 91, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R compreender uma cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 13; e compreende o anticorpo anti-CSF1R compreender uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 14.

93. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 81 a 85 ou de 87 a 92, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R ser

cabiralizumabe.

94. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 81 a 93, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 ser administrado ao sujeito antes do anticorpo anti-CSF1R.

95. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 94, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R ser administrado de 30 minutos a 120 minutos após o inibidor de PD-1.

96. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 95, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 ser infundido durante um período de 30-60 minutos; e o anticorpo anti-CSF1R ser infundido durante um período de 30-60 minutos.

97. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 96, caracterizado pela infusão do anticorpo anti-CSF1R ser iniciada de 30-120 minutos após o final da infusão do anticorpo anti-PD-1.

98. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 97, caracterizado pela infusão do anticorpo anti-CSF1R ser iniciada de 30-60 minutos (por exemplo, 30 minutos) após o final da infusão do anticorpo anti-PD-1.

99. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 81 a 98, caracterizado pelo sujeito ter recebido anteriormente uma terapia inibidora de PD-1/PD-L1.

100. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 99, caracterizado pelo sujeito ser um respondedor inadequado ao inibidor de PD-1/PD-L1.

101. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 99 ou 100, caracterizado pelo sujeito ser refratário para um inibidor de PD-1/PD-L1, por exemplo, após pelo menos 2 doses.

102. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 81 a 85 ou de 88 a 101, caracterizado pelo o anticorpo anti-CSF1R ser cabiralizumabe e o anti-DP-1 humanizado ser nivolumabe, em que o cabiralizumabe é administrado na dose de 4 mg/kg uma vez a cada duas



semanas e o nivolumabe é administrado na dose de 3 mg/kg uma vez a cada duas semanas.

103. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 81 a 102, caracterizado pelo câncer ser câncer pancreático, câncer de ovário, câncer renal, glioma maligno, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC) ou carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço (SCCHN).

104. MÉTODO PARA TRATAR O CÂNCER em um sujeito, caracterizado por compreender:

a) a administração ao sujeito de pelo menos uma dose de um anticorpo anti-CSF1R e um anticorpo anti-PD-1, em que o nível de expressão de pelo menos um gene marcador é determinado antes e após a administração, e o pelo menos um gene marcador compreende um ou mais dentre: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1, TNF, CD72, CD79A, CD79B, MS4A1, TNFRSF17, CD3D, CD8A, CD8B, GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7, PRF1, BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT, e FOXP3; e

b) a continuação da administração do anticorpo anti-CSF1R e do anticorpo anti-PD-1 ao sujeito se o nível de expressão de pelo menos um gene marcador aumentar após a administração de (a) quando comparado ao nível de expressão determinado antes da administração.

105. MÉTODO PARA TRATAR O CÂNCER em um sujeito, caracterizado por compreender:

a) a administração ao sujeito de pelo menos uma dose de um anticorpo anti-CSF1R e um anticorpo anti-PD-1, em que o nível de expressão de pelo menos um gene marcador é determinado como aumentado após a administração, e o pelo menos um gene marcador compreende um ou mais

dentre: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1, TNF, CD72, CD79A, CD79B, MS4A1, TNFRSF17, CD3D, CD8A, CD8B, GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7, PRF1, BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT, e FOXP3; e

b) a continuação da administração do anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1 ao sujeito.

106. MÉTODO PARA TRATAR O CÂNCER em um sujeito, caracterizado por compreender:

a) a administração ao sujeito de pelo menos uma dose de um anticorpo anti-CSF1R e um anticorpo anti-PD-1, em que o nível de expressão de pelo menos um gene marcador compreendendo um ou ambos dentre CSF-1 e IL-34 é determinado antes e após a administração, e

b) a continuação da administração do anticorpo anti-CSF1R e do anticorpo anti-PD-1 ao sujeito se o nível de expressão de pelo menos um gene marcador compreendendo um ou ambos dentre CSF-1 e IL-34 aumentar após a administração de (a) quando comparado ao nível de expressão determinado antes da administração.

107. MÉTODO PARA TRATAR O CÂNCER em um sujeito, caracterizado por compreender: a) administrar ao sujeito pelo menos uma dose de um anticorpo anti-CSF1R e de um anticorpo anti-PD-1, em que o nível de expressão de pelo menos um gene marcador compreendendo um ou ambos dentre CSF-1 e IL-34 é determinado como aumentado após a administração e b) continuando a administração do anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1 ao sujeito.

108. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 104 ou 105, caracterizado por compreender adicionalmente a medição do nível de uma expressão ou mais dentre CSF1R, CSF-1 e IL-34, em que aumentos nos níveis

de expressão de CSF-1 e IL-34 após a administração indicam que o sujeito é sensível ao tratamento com o anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1, enquanto uma diminuição no nível de expressão de CSF1R indica que o sujeito não responde ao tratamento com o anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1.

109. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 104 ou 105 ou 108, caracterizado por pelo menos um gene marcador compreender:

- a. pelo menos um gene marcador pró-inflamatório compreendendo: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1, e TNF;
- b. pelo menos um marcador de célula B compreendendo: CD72, CD79A, CD79B, MS4A1 e TNFRSF17;
- c. pelo menos um marcador de célula T CD8 compreendendo: CD3D, CD8A e CD8B;
- d. pelo menos um marcador citolítico de célula T efetora compreendendo: GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7 e PRF1; e/ou
- e. pelo menos um marcador de receptor de célula T efetora compreendendo: BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT e FOXP3.

110. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 104 a 109, caracterizado por uma ou duas doses do anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1 serem administradas na parte (a).

111. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 104 a 110, caracterizado pelo nível de expressão de pelo menos um gene marcador poder ser o nível de expressão de RNA, por exemplo, medido por análise de transcriptoma, sequenciamento de RNA ou PCR via transcriptase

reversa.

112. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 104 a 111, caracterizado pelo câncer ter sido determinado (i) como sendo MSS e (ii) com uma TMB inferior a 20, inferior a 15 ou inferior a 10 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio *F1CDx*<sup>®</sup> e/ou o câncer foi determinado com uma TMB com menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações *missense* conforme determinado por WES.

113. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 104 a 111, caracterizado pelo câncer ter sido determinado (i) como sendo MSS e (ii) possuindo uma TMB inferior a 20, inferior a 15 ou inferior a 10 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio *F1CDx*<sup>®</sup> e/ou foi determinado com uma TMB com menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações *missense* conforme determinado por WES.

114. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 112 ou 113, caracterizado pelo câncer ter sido determinado com uma TMB com menos de 15 mutações/megabases, tal como determinado pelo ensaio *F1CDx*, e/ou o câncer foi determinado com uma TMB com menos de 300 mutações *missense*, conforme determinado por WES.

115. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 112 ou 113, caracterizado pelo câncer ter sido determinado com uma TMB com menos de 10 mutações/megabases, tal como determinado pelo ensaio *F1CDx*, e/ou o câncer foi determinado com uma TMB com menos de 200 mutações *missense*, conforme determinado por WES.

116. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 104 a 115, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R compreender uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 5, uma CDR2 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 6 e uma CDR3 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 7; e uma

cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 8, uma CDR2 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 9 e uma CDR3 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 10; e

em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 28, uma CDR2 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 30 e uma CDR3 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 32; e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 35, uma CDR2 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 37 e uma CDR3 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 39.

117. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 104 a 116, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R ser um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>.

118. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 104 a 117, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 ser um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>.

119. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 104 a 118, caracterizado pela cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 compreender uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 23; e a cadeia leve do anticorpo anti-PD-1 compreender uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 25.

120. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 104 a 117, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 compreender uma cadeia pesada compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 23 e 24; e o anticorpo anti-PD-1 compreender uma cadeia leve compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 25 e 26.

121. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações

de 104 a 117, caracterizado pelo o anticorpo anti-PD-1 ser nivolumabe, pembrolizumabe ou PDR001.

122. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 104 a 121, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R compreender uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 11; e compreende o anticorpo anti-CSF1R compreender uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 12.

123. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 104 a 116 ou de 118 a 122, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R compreender uma cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 13; e compreende o anticorpo anti-CSF1R compreender uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 14.

124. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 104 a 116 ou de 118 a 123, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R ser cabiralizumabe.

125. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 104 a 124, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 ser administrado ao sujeito antes do anticorpo anti-CSF1R.

126. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 125, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R ser administrado de 30 minutos a 120 minutos após o inibidor de PD-1.

127. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 126, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 ser infundido durante um período de 30-60 minutos; e o anticorpo anti-CSF1R ser infundido durante um período de 30-60 minutos.

128. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 127, caracterizado pela infusão do anticorpo anti-CSF1R ser iniciada de 30-120 minutos após o final da infusão do anticorpo anti-PD-1.

129. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 128, caracterizado pela infusão do anticorpo anti-CSF1R ser iniciada de 30-60 minutos (por exemplo, 30 minutos) após o final da infusão do anticorpo anti-PD-1.

130. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 104 a 129, caracterizado pelo sujeito ter recebido anteriormente uma terapia inibidora de PD-1/PD-L1.

131. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 130, caracterizado pelo sujeito ser um respondedor inadequado ao inibidor de PD-1/PD-L1.

132. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 130 ou 131, caracterizado pelo sujeito ser refratário para um inibidor de PD-1/PD-L1, por exemplo, após pelo menos 2 doses.

133. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 104 a 116 ou de 119 a 132, caracterizado pelo o anticorpo anti-CSF1R ser cabiralizumabe e o anti-DP-1 humanizado ser nivolumabe, em que o cabiralizumabe é administrado na dose de 4 mg/kg uma vez a cada duas semanas e o nivolumabe é administrado na dose de 3 mg/kg uma vez a cada duas semanas.

134. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 104 a 133, caracterizado pelo câncer ser câncer pancreático, câncer de ovário, câncer renal, glioma maligno, melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC) ou carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço (SCCHN).

135. MÉTODO PARA DETERMINAR A RESPONSABILIDADE DE UM SUJEITO COM CÂNCER ao tratamento com uma combinação de um anticorpo anti-csf1r e um anticorpo anti-pd-1, caracterizado por compreender a determinação do nível de expressão de pelo menos um gene marcador antes e

depois que o sujeito é administrado com pelo menos uma dose dos anticorpos anti-CSF1R e anti-PD-1, em que o pelo menos um gene marcador compreende um ou mais dentre: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1, TNF, CD72, CD79A, CD79B, MS4A1, TNFRSF17, CD3D, CD8A, CD8B, GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7, PRF1, BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT e FOXP3, e em que um aumento no nível de expressão do pelo menos um gene marcador após a administração indica que o sujeito é responsivo ao tratamento com a combinação de anticorpos anti-CSF1R e anti-PD-1.

136. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 135, caracterizado por pelo menos um gene marcador compreender:

- a. pelo menos um gene marcador pró-inflamatório compreendendo: CCL19, CCL5, CCL8, CCR7, CD86, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL9, IFNG, IL23A, STAT1 e TNF;
- b. pelo menos um marcador de célula B compreendendo: CD72, CD79A, CD79B, MS4A1 e TNFRSF17;
- c. pelo menos um marcador de célula T CD8 compreendendo: CD3D, CD8A e CD8B;
- d. pelo menos um marcador citolítico de célula T efetora compreendendo: GZMM, APOL3, CTSW, GNLY, GZMA, GZMH, KLRB1, KLRD1, KLRK1, NKG7 e PRF1; e/ou
- e. pelo menos um marcador de receptor de célula T efetora compreendendo: BTLA, CD244, CD96, CTLA4, LAG3, PDCD1, TIGIT e FOXP3.

137. MÉTODO PARA DETERMINAR A RESPONSABILIDADE DE UM SUJEITO COM CÂNCER ao tratamento com uma combinação de um



anticorpo anti-csf1r e um anticorpo anti-pd-1, caracterizado por compreender a determinação do nível de expressão de pelo menos um gene marcador antes e após o sujeito ser administrado com pelo menos uma dose do anticorpo anti-CSF1R e do anticorpo anti-PD-1, em que o pelo menos um gene marcador compreende um ou ambos dentre CSF-1 e IL-34, e em que um aumento no nível de expressão do pelo menos um gene marcador após a administração indica que o sujeito é responsivo ao tratamento combinado com o anticorpo anti-CSF1R e o anticorpo anti-PD-1.

138. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 135 ou 136, caracterizado por compreender adicionalmente a medição do nível de uma expressão ou mais dentre CSF1R, CSF-1 e IL-34, em que aumentos nos níveis de expressão de CSF-1 e IL-34 após a administração indicam que o sujeito é sensível ao tratamento com o anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1, enquanto uma diminuição no nível de expressão de CSF1R indica que o sujeito não responde ao tratamento com o anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1.

139. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 135 a 138, caracterizado pelo sujeito ser administrado com uma ou duas doses do anticorpo anti-CSF1R e anticorpo anti-PD-1 entre as determinações do nível de expressão do pelo menos um gene marcador.

140. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 135 a 139, caracterizado pelo nível de expressão de pelo menos um gene marcador poder ser o nível de expressão de RNA, por exemplo, medido por análise de transcriptoma, ou PCR via transcriptase reversa.

141. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 135 a 140, caracterizado pelo câncer ter sido determinado como sendo MSS e com uma TMB inferior a 20, inferior a 15 ou inferior a 10 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio *F1CDx*<sup>®</sup> e/ou o

câncer foi determinado com uma TMB com menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações *missense* conforme determinado por WES.

142. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 135 a 141, caracterizado pelo câncer ter sido determinado (i) como sendo MSS e (ii) com uma TMB inferior a 20, inferior a 15 ou inferior a 10 mutações/megabase, conforme determinado pelo ensaio *F1CDx*<sup>®</sup> e/ou ter sido determinado com uma TMB com menos de 400, menos de 300 ou menos de 200 mutações *missense* conforme determinado por WES.

143. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 141 ou 142, caracterizado pelo câncer ter sido determinado com uma TMB com menos de 15 mutações/megabases, tal como determinado pelo ensaio *F1CDx*, e/ou o câncer foi determinado com uma TMB com menos de 300 mutações *missense*, conforme determinado por WES.

144. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 141 ou 142, caracterizado pelo câncer ter sido determinado com uma TMB com menos de 10 mutações/megabases, tal como determinado pelo ensaio *F1CDx*, e/ou o câncer foi determinado com uma TMB com menos de 200 mutações *missense*, conforme determinado por WES.

145. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 135 a 144, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R compreender uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 5, uma CDR2 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 6 e uma CDR3 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 7; e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 8, uma CDR2 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 9 e uma CDR3 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 10; e

em que o anticorpo anti-PD-1 compreende uma cadeia pesada compreendendo uma CDR1 de cadeia pesada (HC) possuindo a sequência de

SEQ ID NO: 28, uma CDR2 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 30 e uma CDR3 HC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 32; e uma cadeia leve compreendendo uma CDR1 de cadeia leve (LC) possuindo a sequência de SEQ ID NO: 35, uma CDR2 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 37 e uma CDR3 LC possuindo a sequência de SEQ ID NO: 39.

146. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 135 a 145, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R ser um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>.

147. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 135 a 146, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 ser um fragmento Fab, Fv, scFv, Fab' ou (Fab')<sub>2</sub>.

148. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 135 a 147, caracterizado pela cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 compreender uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 23; e a cadeia leve do anticorpo anti-PD-1 compreender uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 25.

149. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 135 a 146, caracterizado pelo anticorpo anti-PD-1 compreender uma cadeia pesada compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 23 e 24; e o anticorpo anti-PD-1 compreender uma cadeia leve compreendendo a sequência de cada uma das SEQ ID NOs: 25 e 26.

150. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 135 a 146, caracterizado pelo o anticorpo anti-PD-1 ser nivolumabe, pembrolizumabe ou PDR001.

151. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 135 a 150, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R compreender uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO:

11; e compreende o anticorpo anti-CSF1R compreender uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 12.

152. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 135 a 145 ou de 147 a 151, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R compreender uma cadeia pesada compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 13; e compreende o anticorpo anti-CSF1R compreender uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 14.

153. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 135 a 145 ou de 147 a 152, caracterizado pelo anticorpo anti-CSF1R ser cabiralizumabe.

154. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 135 a 153, caracterizado pelo sujeito ter recebido anteriormente uma terapia inibidora de PD-1/PD-L1.

155. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 154, caracterizado pelo sujeito ser um respondedor inadequado ao inibidor de PD-1/PD-L1.

156. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 154 ou 155, caracterizado pelo sujeito ser refratário para um inibidor de PD-1/PD-L1, por exemplo, após pelo menos 2 doses.

157. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 133 a 142 ou de 145 a 153, caracterizado pelo o anticorpo anti-CSF1R ser cabiralizumabe e o anti-DP-1 humanizado ser nivolumabe, em que o cabiralizumabe é administrado na dose de 4 mg/kg uma vez a cada duas semanas e o nivolumabe é administrado na dose de 3 mg/kg uma vez a cada duas semanas.

158. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 135 a 157, caracterizado pelo câncer ser câncer pancreático, câncer de ovário, câncer renal, glioma maligno, melanoma, câncer de pulmão de células

não pequenas (NSCLC) ou carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço (SCCHN).

159. MÉTODO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 158, caracterizado pelo fato de que um ou mais dos seguintes é determinado:

- (i) o nível de células T efectoras CD8<sup>+</sup> no tumor aumenta, por exemplo, em, pelo menos, 10%, 20%, 30% ou 35% a partir do nível basal, após o tratamento;
- (ii) o número de macrófagos CSF-1R<sup>+</sup> no tumor diminui após o tratamento;
- (iii) os macrófagos M2, ou marcadores dos mesmos (por exemplo, CSF-1R e CD163), mostraram diminuições pronunciadas em relação aos níveis basais nos tumores, por exemplo, no dia 28 do tratamento; e/ou
- (iv) o CD68 diminui a partir do basal nos tumores, por exemplo, no dia 28 do tratamento.

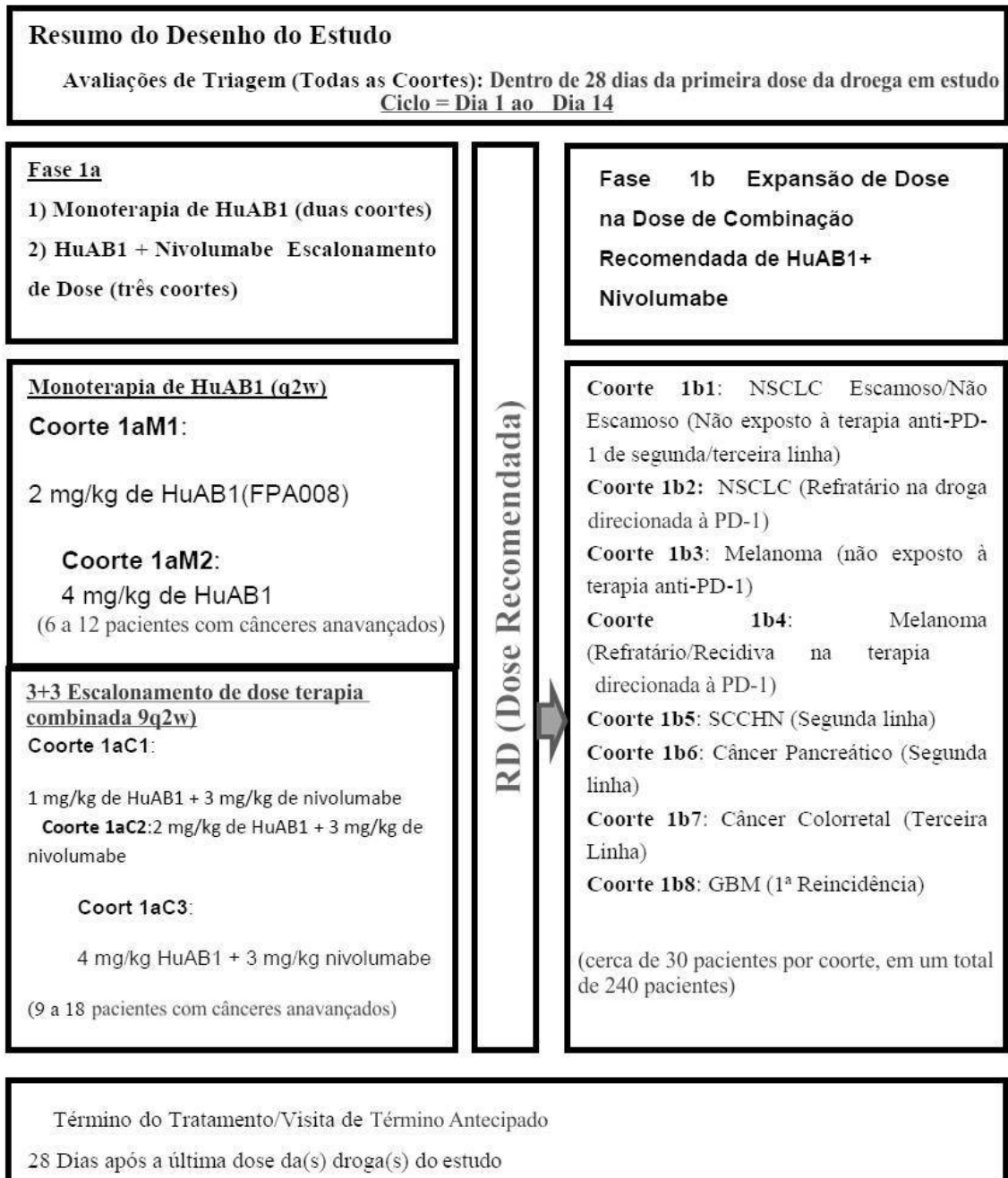


Fig. 1



Fig. 2

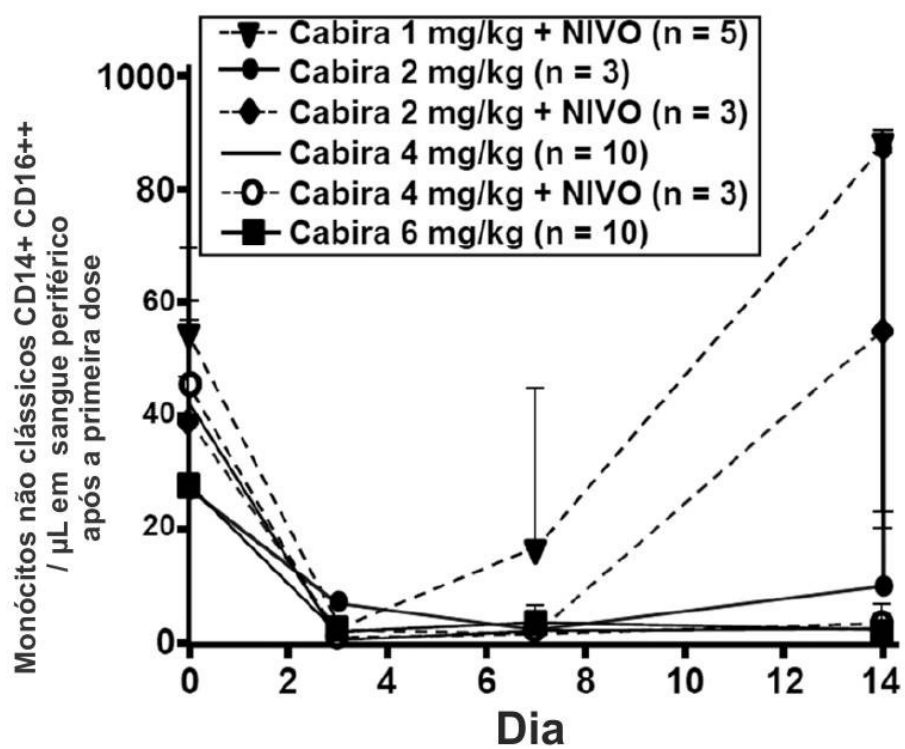


Fig. 3A



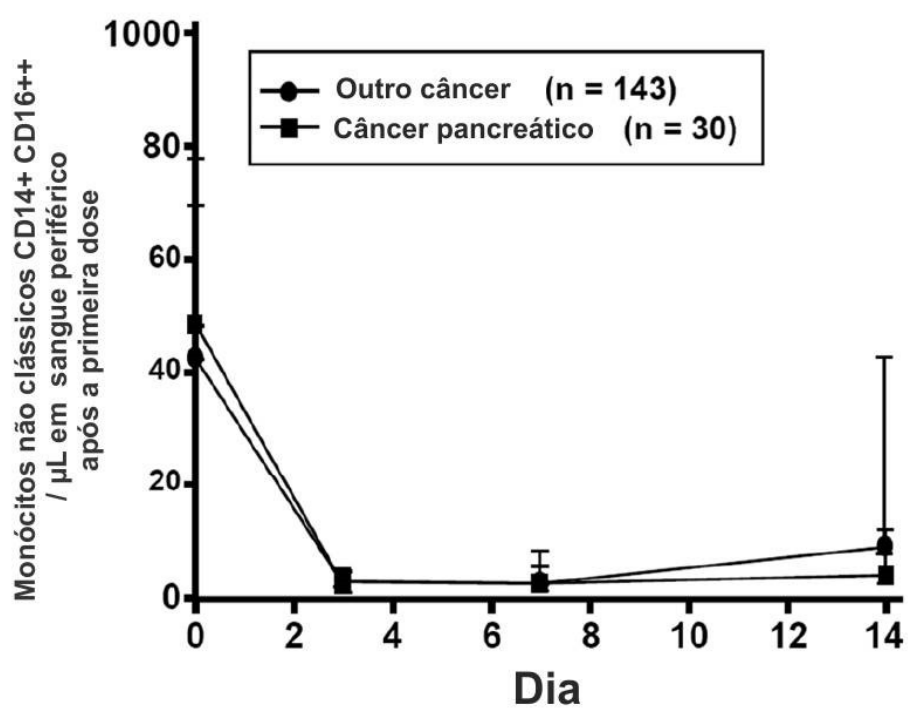


Fig. 3B

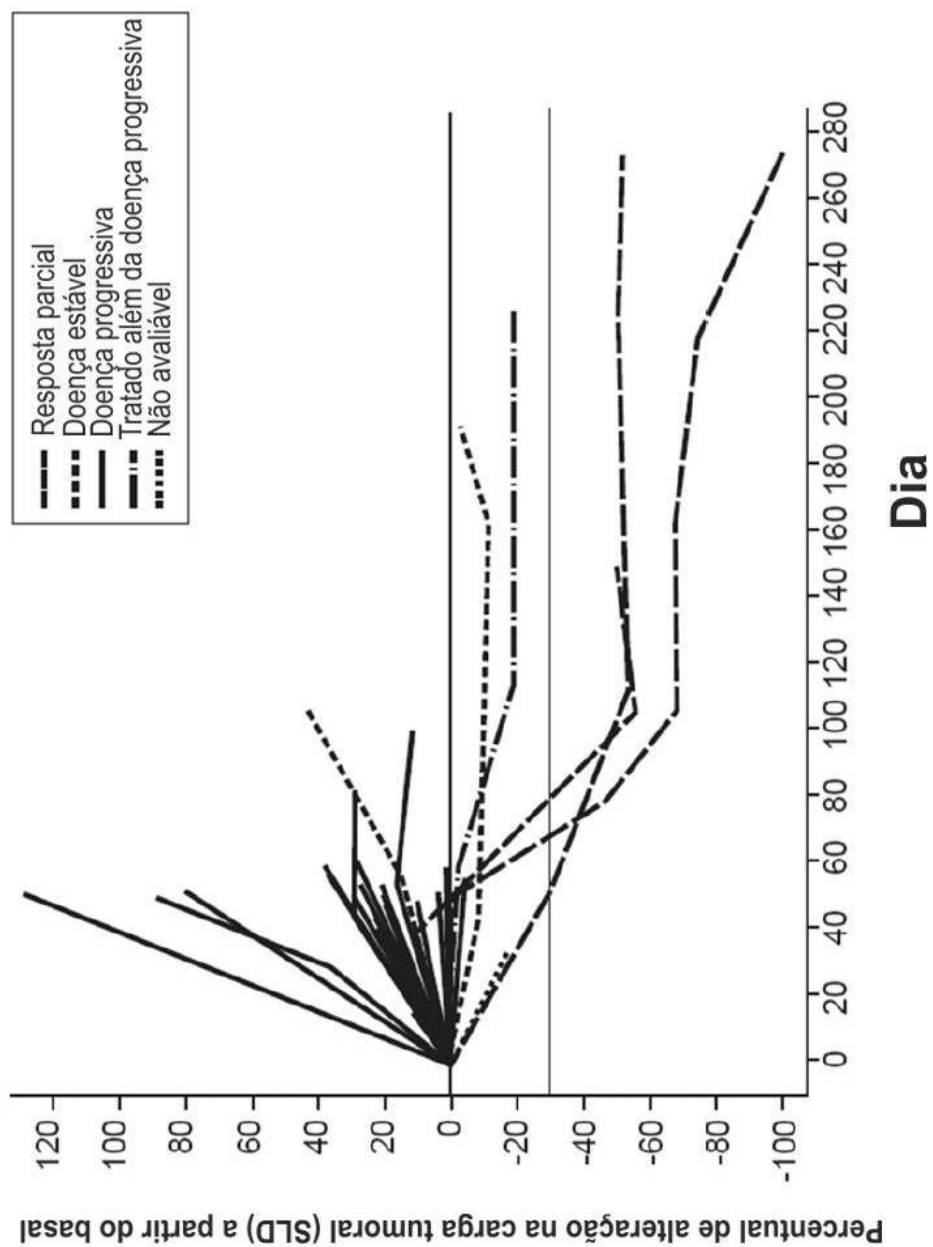


Fig. 4

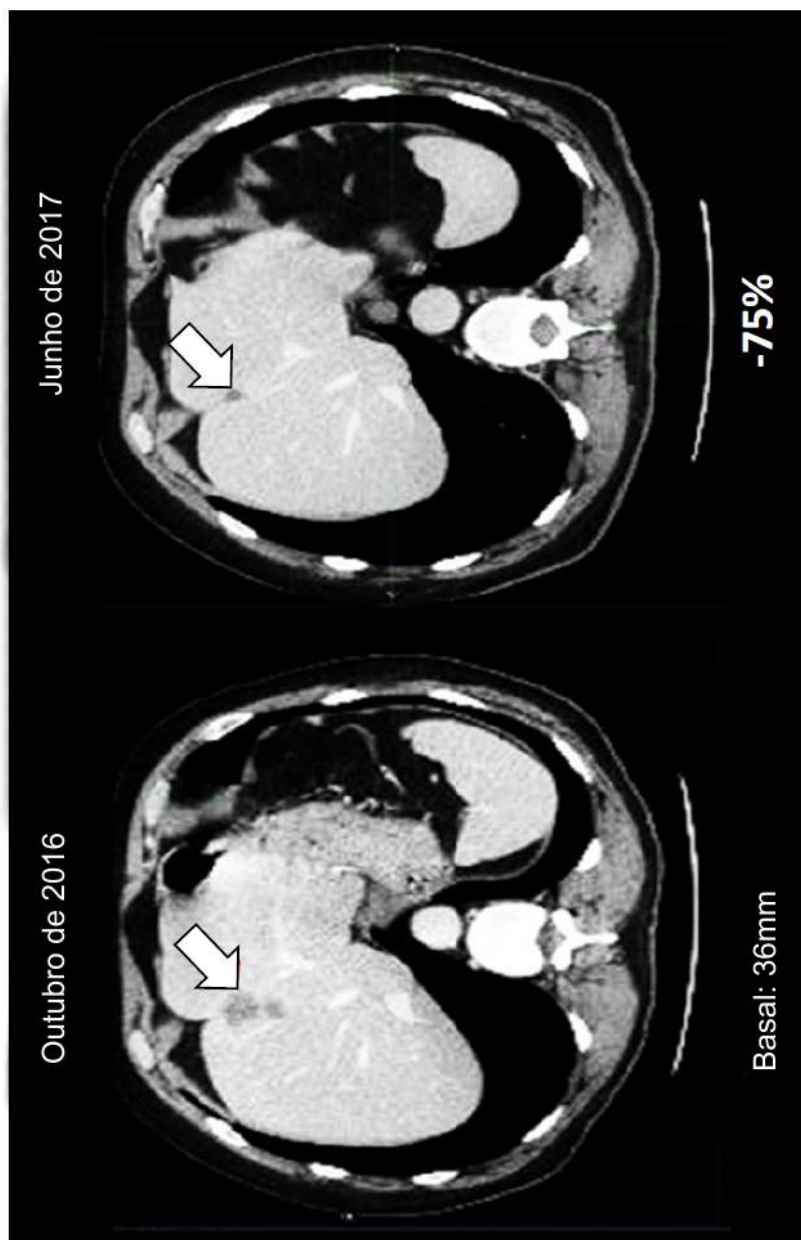
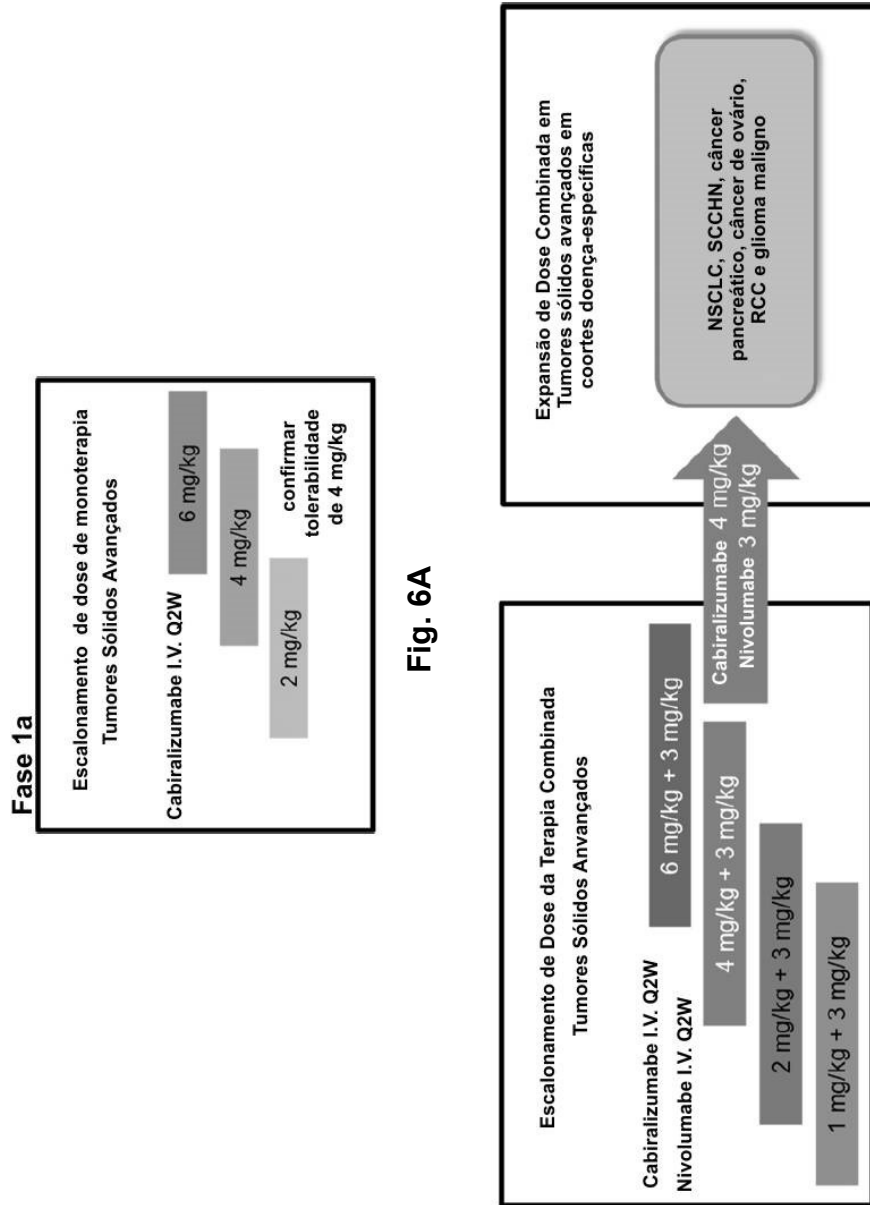


Fig. 5



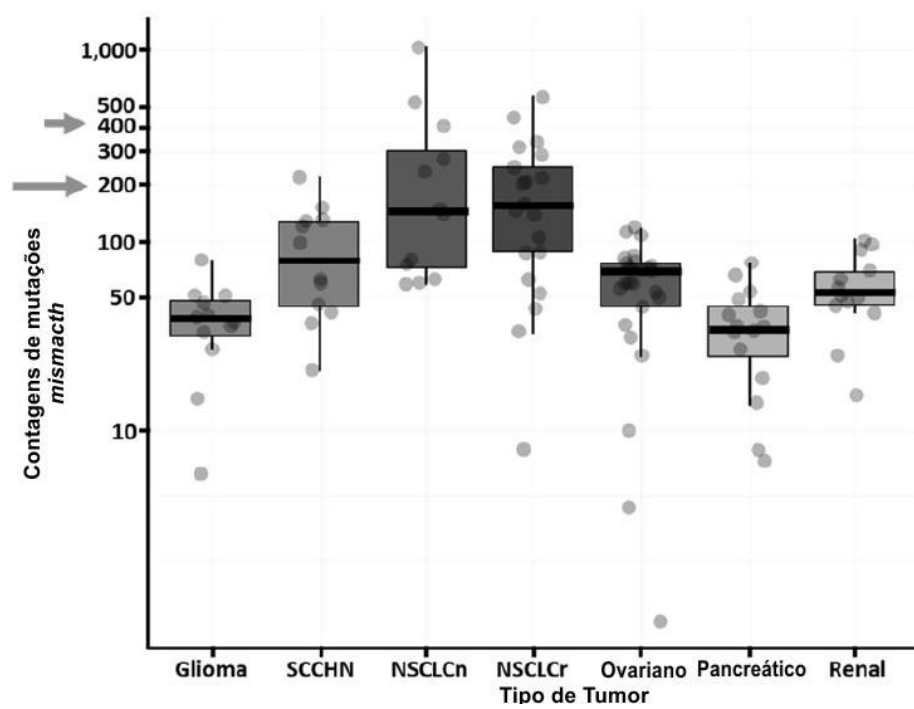


Fig. 7

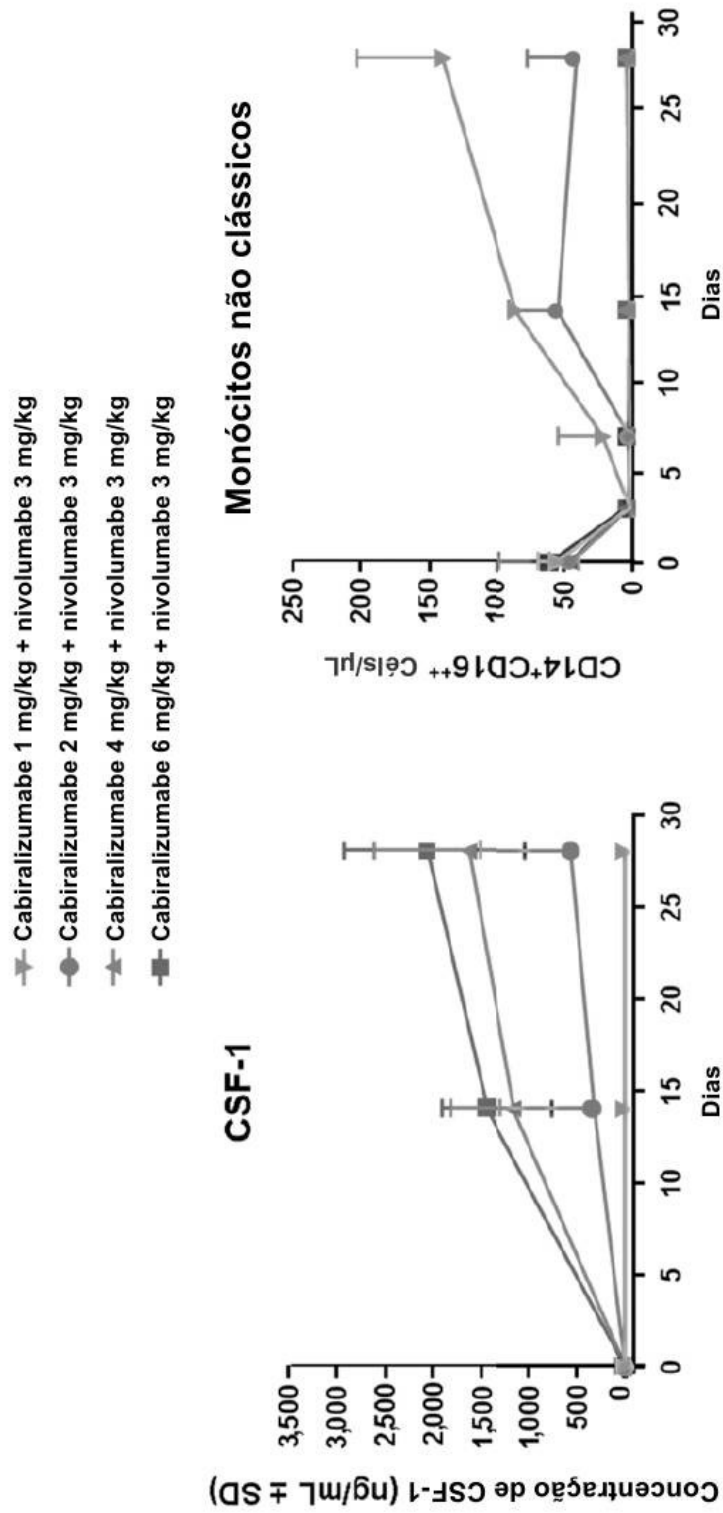


Fig. 8B

Fig. 8A

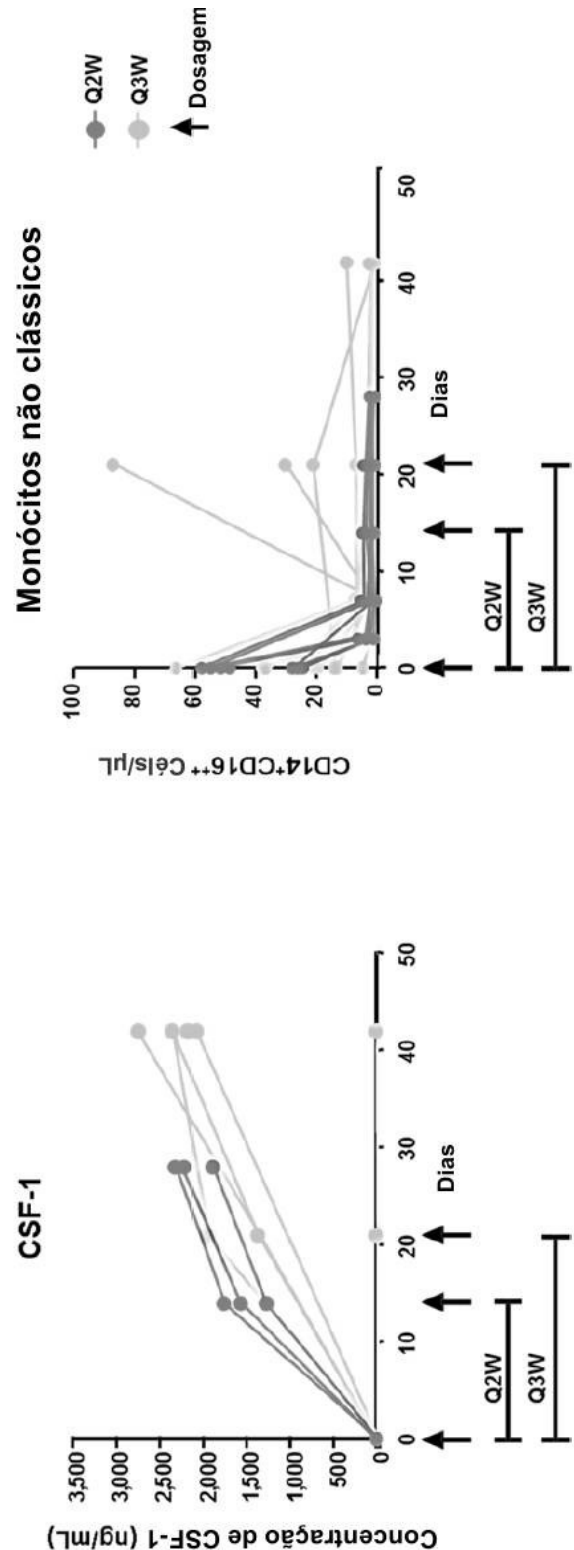


Fig. 9B

Fig. 9A

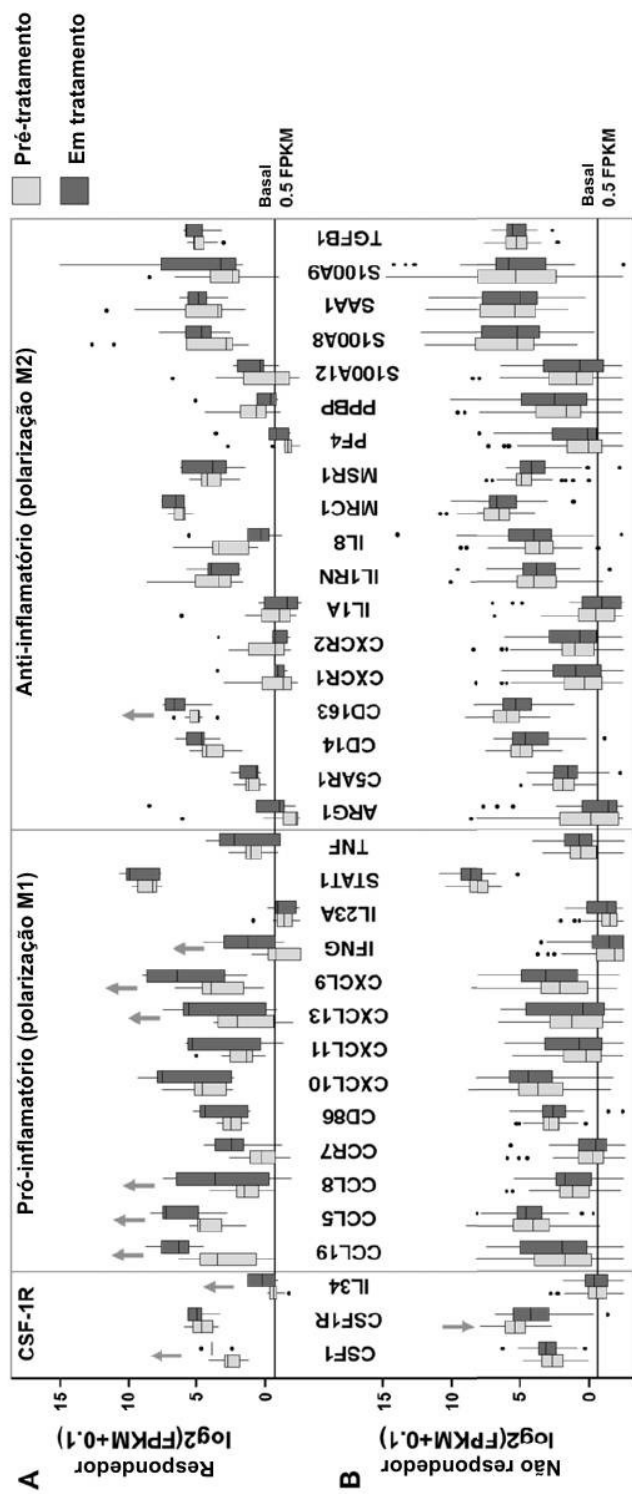


Fig. 10



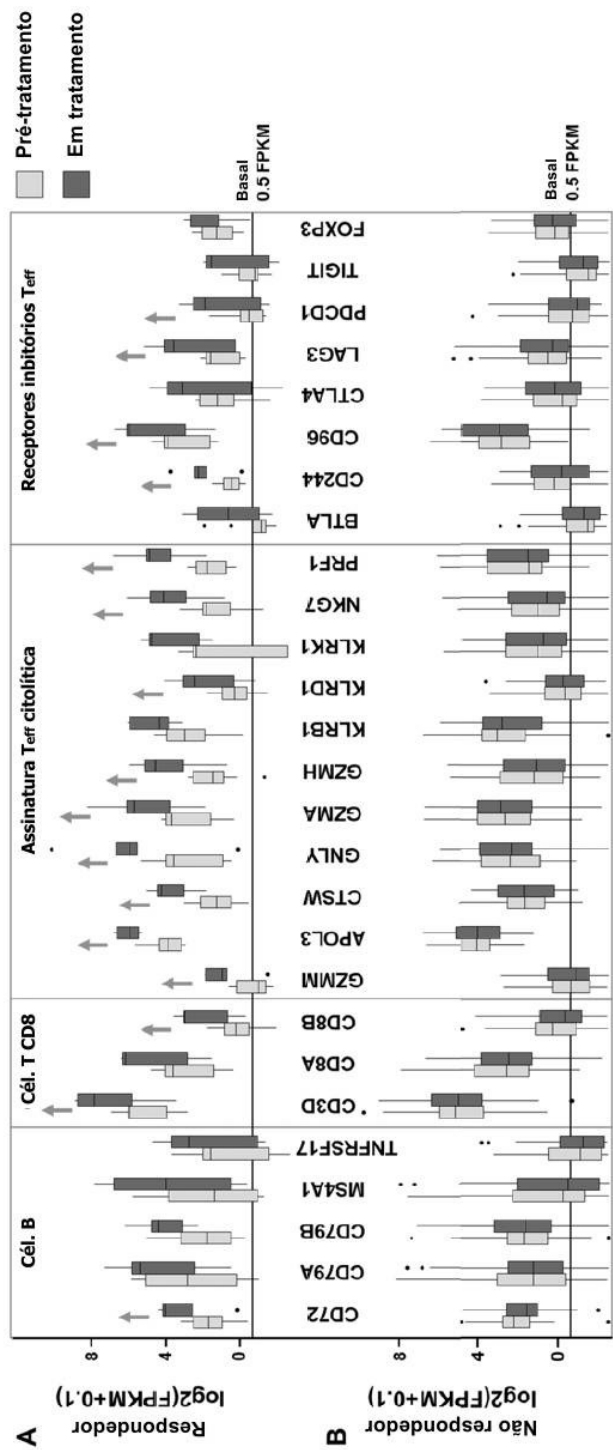


Fig. 11

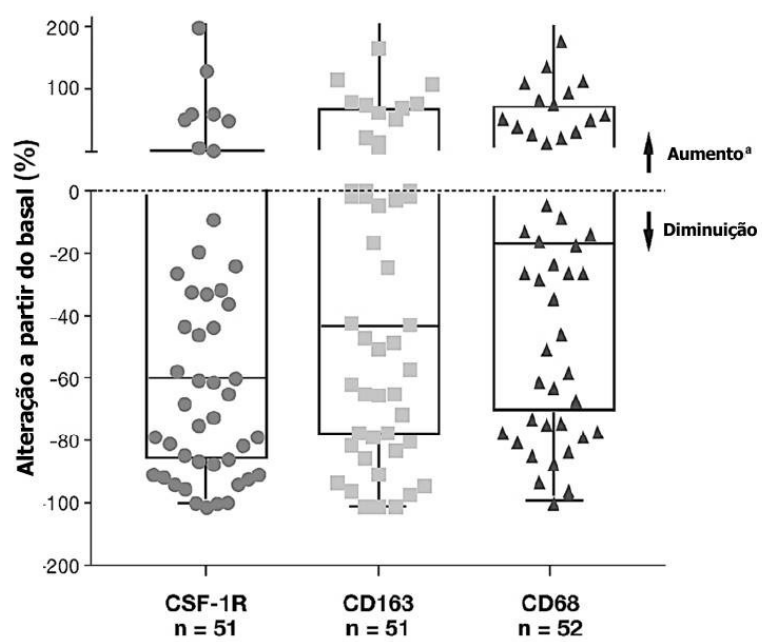
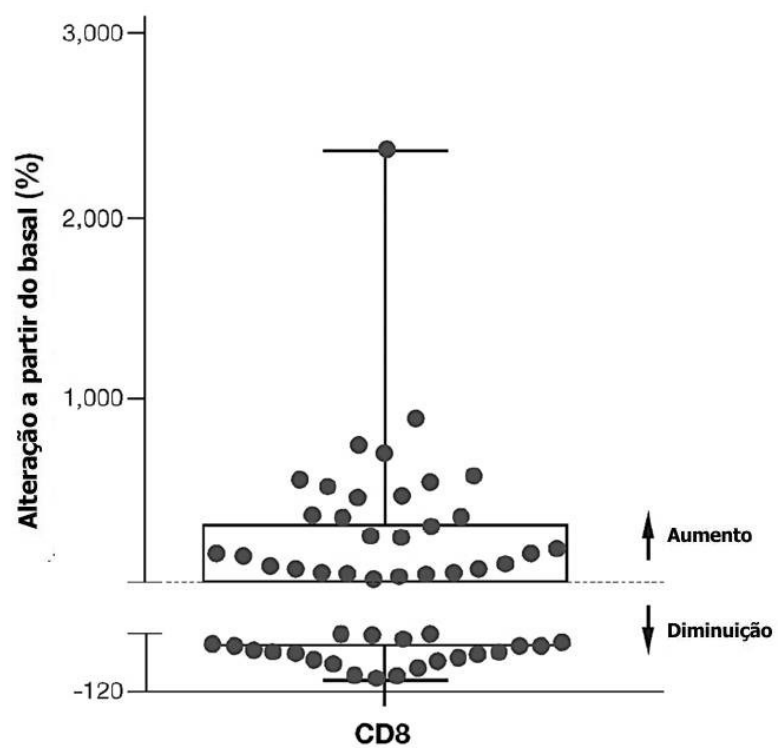
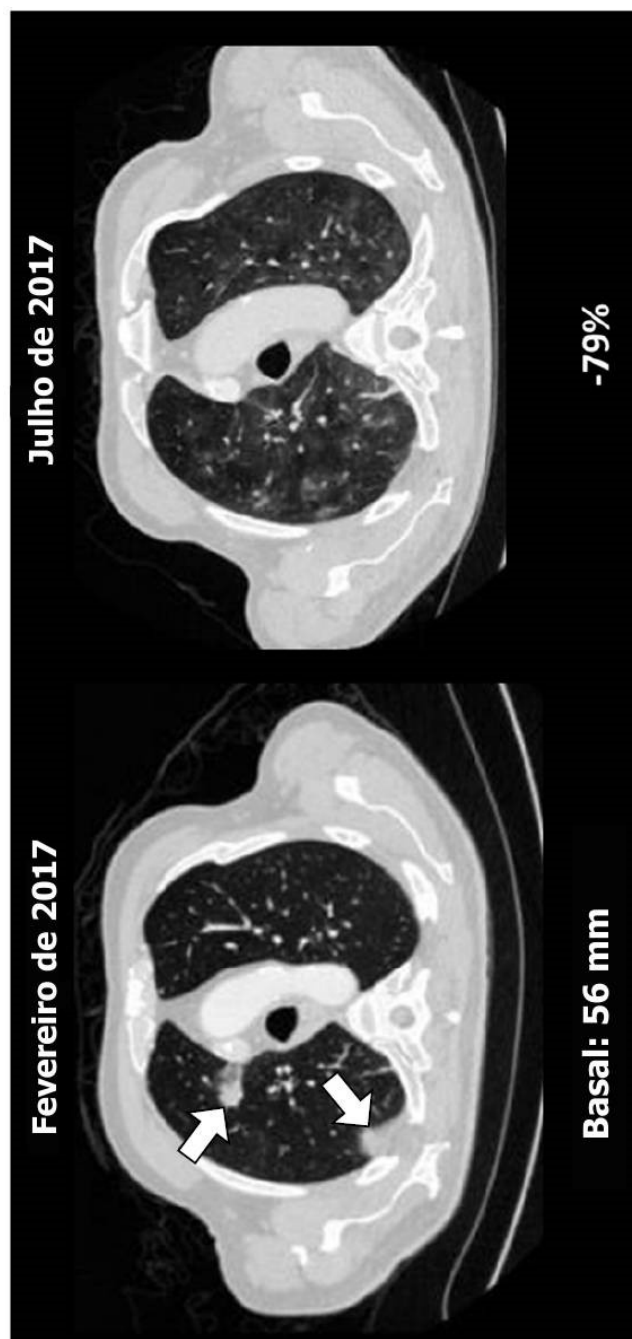


Fig. 12



n=52

Fig. 13



**RESUMO**

**“MÉTODOS PARA TRATAR O CÂNCER PANCREÁTICO, PARA TRATAR O  
CÂNCER E PARA DETERMINAR A RESPONSABILIDADE DE UM SUJEITO  
COM CÂNCER”**

A presente invenção refere-se a métodos de tratamento do câncer pancreático com determinados regimes de dosagem com anticorpos que se ligam ao receptor do fator 1 estimulador de colônias (CSF1R) (por exemplo, cabiralizumabe) em combinação com anticorpos que se ligam à proteína de morte celular programada 1 (PD-1) (por exemplo, nivolumabe).

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

### **Código de Controle**

Campo 1



Campo 2



### **Outras Informações:**

- Nome do Arquivo: 2553-0089\_Filing\_Sequence Listing\_VGD.TXT
- Data de Geração do Código: 11/03/2020
- Hora de Geração do Código: 16:09:16
- Código de Controle:
  - Campo 1: 5BB353C4D76E847B
  - Campo 2: 01C4CDF33A337076