

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 986 921**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/395** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.10.2019 PCT/US2019/056923**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.04.2020 WO20081928**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.10.2019 E 19798464 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.07.2024 EP 3866850**

54 Título: **Terapia combinada para el melanoma**

30 Prioridad:

**19.10.2018 US 201862748089 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**13.11.2024**

73 Titular/es:

**BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (100.0%)  
Route 206 and Province Line Road  
Princeton, NJ 08543, US**

72 Inventor/es:

**MAURER, MATTHEW y  
SIMONSEN, KATY L.**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 986 921 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Terapia combinada para el melanoma

5 **Campo de la Invención**

La invención descrita en el presente documento se refiere al tratamiento de un melanoma metastásico o irresecable en un paciente humano con una combinación de un inhibidor de LAG-3 y un inhibidor de la vía de PD-1.

10 **Antecedentes de la Invención**

El gen-3 de activación de linfocitos (LAG-3; CD223) es una proteína transmembrana de tipo I que se expresa en la superficie celular de células T CD4+ y CD8+ activadas y subconjuntos de células NK y dendríticas (Triebel F, *et al.*, *J. Exp. Med.* 1990; 171: 1393-1405; Workman C J, *et al.*, *J. Immunol.* 2009; 182 (4): 1885-91). LAG-3 está estrechamente relacionado con CD4, que es un correceptor para la activación de las células T auxiliares. Ambas moléculas tienen 4 dominios extracelulares similares a Ig y se unen al complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de clase II. A diferencia de CD4, LAG-3 solo se expresa en la superficie celular de las células T activadas y su escisión de la superficie celular termina la señalización de LAG-3. LAG-3 también se puede encontrar como proteína soluble pero se desconoce su función.

El PD-1 es un receptor de señalización de la superficie celular que juega un papel crítico en la regulación de la activación y tolerancia de las células T (Keir M E, *et al.*, *Annu Rev Immunol* 2008; 26: 677-704). Es una proteína transmembrana de tipo I y, junto con BTLA, CTLA-4, ICOS y CD28, comprenden la familia CD28 de receptores coestimuladores de células T. PD-1 se expresa principalmente en células T activadas, células B y células mieloides (Dong H, *et al.*, *Nat Med.* 1999; 5: 1365-1369). También se expresa en células asesinas naturales (NK) (Terme M, *et al.*, *Cancer Res* 2011; 71: 5393-5399). La unión de PD-1 por sus ligandos, PD-L1 y PD-L2, da como resultado la fosforilación del residuo de tirosina en el dominio inhibidor de tirosina del receptor inmune intracelular proximal, seguido por el reclutamiento de la fosfatasa SHP-2, lo que eventualmente resulta en una regulación negativa de la activación de las células T. Un papel importante de PD-1 es limitar la actividad de las células T en los tejidos periféricos en el momento de una respuesta inflamatoria a la infección, limitando así el desarrollo de autoinmunidad (Pardoll D M., *Nat Rev Cancer* 2012; 12: 252-264). La evidencia de esta función reguladora negativa proviene del hallazgo de que los ratones deficientes en PD-1 desarrollan enfermedades autoinmunes similares al lupus que incluyen artritis y nefritis, junto con cardiomiopatía (Nishimura H, *et al.*, *Immunity*, 1999; 11: 141-151; y Nishimura H, *et al.*, *Science*, 2001; 291: 319-322). PD-1 se expresa en linfocitos que infiltran tumores y sus ligandos se regulan positivamente en la superficie celular de muchos tumores diferentes (Dong H, *et al.*, *Nat Med* 2002; 8: 793-800). Varios modelos de cáncer murino han demostrado que la unión del ligando a PD-1 da como resultado la evasión inmune. Además, el bloqueo de esta interacción da como resultado una actividad antitumoral (Topalian S L, *et al.* *NEJM* 2012; 366 (26): 2443-2454; Hamid O, *et al.*, *NEJM* 2013; 369: 134-144). Además, se ha demostrado que la inhibición de la interacción PD-1/PD-L1 media una potente actividad antitumoral en modelos preclínicos (patentes estadounidenses Nos. 8,008,449 y 7,943,743).

Ascierto P. A., *et al.* *Journal of Clinical Oncology*, vol. 35, n.º 15 supl., 2017, páginas 9520-9520 analiza la eficacia inicial de BMS-986016 en combinación con nivolumab en pacientes con melanoma tratados previamente con terapia anti-PD-1/PD-L1. "Relatlimab/Nivolumab Combo Active in Melanoma After PD-1/PD-L1 Therapy" (<https://www.onclive.com/view/relatlimabnivolumab-combo-active-in-melanoma-after-pd1pd1-therapy>) analiza que la mitad de los pacientes con melanoma que progresaron con la terapia anti-PD-1/PD-L1 se beneficiaron de la combinación de nivolumab y relatlimab (BMS-986016). El documento WO 2015/042246 A1 analiza una combinación de anticuerpos anti-LAG-3 y anticuerpos anti-PD-1 para tratar tumores. El documento WO 2018/222722 A2 (que se incluye en el Art. 54(3) EPC) se refiere a composiciones que comprenden un anticuerpo anti-LAG-3 o un anticuerpo anti-LAG-3 en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 o anti-PD-L1. El documento NCT03470922 (actualizado el 8 de octubre de 2018) es un estudio clínico de relatlimab más nivolumab frente a nivolumab solo en participantes con melanoma avanzado, y el documento NCT01968109 (actualizado el 10 de septiembre de 2018) es un estudio de inmunoterapia en investigación para evaluar la seguridad, tolerabilidad y eficacia de BMS-986016 solo y en combinación con nivolumab.

Un objeto de la presente invención es proporcionar métodos mejorados para tratar el melanoma metastásico o irresecable.

60 **Breve descripción de la invención**

La invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

Las referencias a continuación en el presente documento a los métodos de tratamiento o métodos para inhibir el crecimiento de un tumor deben entenderse como referencias a compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos para su uso en esos métodos.

Un aspecto adicional de la invención descrita en este documento se refiere a un método para tratar un tumor de melanoma metastásico en un paciente humano, en donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de: (a) un antagonista de LAG-3; y (b) un inhibidor de la vía de PD-1; en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el melanoma metastásico, como se define en las reivindicaciones.

Otro aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método para tratar un tumor de melanoma irreseccable en un paciente humano, en donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de: (a) un antagonista de LAG-3; y (b) un inhibidor de la vía de PD-1; en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el melanoma irreseccable, como se define en las reivindicaciones.

Un método para tratar un tumor de melanoma metastásico o irreseccable en un paciente humano comprende un método para inhibir el crecimiento de un tumor de melanoma metastásico o irreseccable en un paciente humano. En algunas modalidades, el paciente tiene melanoma en estadio III o IV irreseccable confirmado histológicamente. En ciertas modalidades, el paciente tiene un estado funcional del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) de 0 o 1. En algunas modalidades, el paciente tiene una enfermedad medible de acuerdo con lo determinado por los Criterios de Evaluación de Respuesta en Tumores Sólidos (RECIST) versión 1.1.

En determinadas modalidades, los linfocitos infiltrantes de tumor del paciente expresan LAG-3. En modalidades particulares, más del 1 % de las células de linfocitos infiltrantes de tumor del paciente expresan LAG-3. En determinadas modalidades, la expresión de LAG-3 se determina a partir de una muestra de tejido de prueba de biopsia de tumor. En ciertas modalidades, la muestra de tejido de prueba es una muestra embebida en parafina fijada con formalina (FFPE). En algunas modalidades, la expresión de LAG-3 se determina midiendo la expresión de proteína o ARN en la muestra de tejido de prueba. En determinadas modalidades, la expresión de LAG-3 se detecta mediante un ensayo capaz de detectar el nivel de proteína LAG-3 en la muestra de tejido de prueba. En otras modalidades, la expresión de LAG-3 se detecta mediante un ensayo de inmunohistoquímica. En determinadas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica es un ensayo monoplex. En algunas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica es un ensayo multiplex. En determinadas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica comprende poner en contacto la muestra de tumor con el anticuerpo monoclonal anti-LAG-3 humano 17B4, SP346, 11E3, 874501 o EPR4392 (2).

En algunas modalidades, las células tumorales del paciente expresan PD-L1. En determinadas modalidades, más del 1 % de las células tumorales del paciente expresan PD-L1. En algunas modalidades, la expresión de PD-L1 se determina a partir de una muestra de tejido de prueba de biopsia de tumor. En ciertas modalidades, la muestra de tejido de prueba es una muestra embebida en parafina fijada con formalina (FFPE). En modalidades particulares, la expresión de PD-L1 se determina midiendo la expresión de proteína o ARN en la muestra de tejido de prueba. En algunas modalidades, la expresión de PD-L1 se detecta mediante un ensayo capaz de detectar el nivel de proteína PD-L1 en la muestra de tejido de prueba. En determinadas modalidades, la expresión de PD-L1 se detecta mediante un ensayo de inmunohistoquímica. En modalidades particulares, el ensayo de inmunohistoquímica es un ensayo monoplex. En otras modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica es un ensayo multiplex.

En determinadas modalidades, las células tumorales del paciente contienen una mutación BRAF V600.

El antagonista de LAG-3 es un anticuerpo anti-LAG-3. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 es un anticuerpo de longitud completa. En modalidades particulares, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, humano, humanizado, quimérico o multiespecífico. En determinadas modalidades, el anticuerpo multiespecífico es un anticuerpo de reorientación de doble afinidad (DART, por sus siglas en inglés), un DVD-Ig o un anticuerpo biespecífico. En algunas modalidades, el anticuerpo es un fragmento F(ab')<sub>2</sub>, un fragmento Fab', un fragmento Fab, un fragmento Fv, un fragmento scFv, un fragmento dsFv, un fragmento dAb o un polipéptido de unión de cadena sencilla. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 es BMS-986016,

El anticuerpo anti-LAG-3 comprende dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 3, y dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 5. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 comprende (a) una CDR1 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 7; (b) una CDR2 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 8; (c) una CDR3 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 9; (d) una CDR1 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 10; (e) una CDR2 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 11; y (f) una CDR3 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 12. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 comprende regiones variables de cadena pesada y ligera que comprenden las secuencias expuestas en SEQ ID NO: 3 y 5, respectivamente. En modalidades particulares, el anticuerpo anti-LAG-3 comprende cadenas ligeras y pesadas que comprenden las secuencias expuestas en SEQ ID NO: 1 y 2, respectivamente.

El inhibidor de la vía de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1 que comprende dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 15, y dominios CDR1, CDR2

y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 17. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab. En modalidades particulares, el anticuerpo anti-PD-1 comprende (a) una CDR1 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 19; (b) una CDR2 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 20; (c) una CDR3 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 21; (d) una CDR1 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 22; (e) una CDR2 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 23; y (f) una CDR3 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 24. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 comprende regiones variables de cadena pesada y ligera que comprenden las secuencias expuestas en SEQ ID NO: 15 y 17, respectivamente. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 comprende cadenas ligeras y pesadas que comprenden las secuencias expuestas en SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente.

En algunas modalidades, se administra una combinación de dosis fija del anti-LAG-3 y el anticuerpo anti-PD-1, a una dosis de 160 mg del anticuerpo anti-LAG-3 y 480 mg de un anticuerpo anti-PD-1. En determinadas modalidades, el método comprende al menos un ciclo de administración, en donde el ciclo es un período de cuatro semanas, y en donde para cada uno de los al menos un ciclo, una dosis del anticuerpo anti-LAG-3 o antagonista se administra a una dosis de 160 mg y una dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de 480 mg.

En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 y el anticuerpo anti-PD-1 se formulan para administración intravenosa. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 y el anticuerpo anti-PD-1 se formulan juntos. En modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 y el anticuerpo anti-PD-1 se formulan por separado.

Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método para inhibir el crecimiento de un tumor de melanoma metastásico en un paciente humano, en donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de: (a) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 5, y (b) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 15, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 17; en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el melanoma metastásico, y en donde el método comprende administrar al paciente 160 mg del anticuerpo anti-LAG-3 y 480 mg del anticuerpo anti-PD-1.

Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método de tratamiento de melanoma metastásico en un paciente humano, en donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de: (a) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tienen la secuencia indicada en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tienen la secuencia indicada en SEQ ID NO: 5, y (b) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 15, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 17; en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el melanoma metastásico, y en donde el método comprende administrar al paciente 160 mg del anticuerpo anti-LAG-3 y 480 mg del anticuerpo anti-PD-1.

Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método para inhibir el crecimiento de un tumor de melanoma irreseccable en un paciente humano, en donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de: (a) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 5, y (b) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 15, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 17; en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el melanoma irreseccable, y en donde el método comprende administrar al paciente 160 mg del anticuerpo anti-LAG-3 y 480 mg del anticuerpo anti-PD-1.

Otro aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método de tratamiento de melanoma irreseccable en un paciente humano, en donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de: (a) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tienen la secuencia indicada en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tienen la secuencia indicada en SEQ ID NO: 5, y (b) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 15, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 17; en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el melanoma irreseccable, y en donde el método comprende administrar al paciente 160 mg del anticuerpo anti-LAG-3 y 480 mg del anticuerpo anti-PD-1.

Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método para inhibir el crecimiento de un tumor de melanoma metastásico en un paciente humano, en donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de: (a) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 5, y (b) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 15, y dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 17; en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el melanoma metastásico; y en donde al menos una dosis del anticuerpo anti-LAG-3 se administra a una dosis de 160 mg y al menos una dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de 480 mg cada cuatro semanas.

Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método de tratamiento de melanoma metastásico en un paciente humano, en donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de: (a) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tienen la secuencia indicada en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tienen la secuencia indicada en SEQ ID NO: 5, y (b) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 15, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 17; en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el melanoma metastásico; y en donde al menos una dosis del anticuerpo anti-LAG-3 se administra a una dosis de 160 mg y al menos una dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de 480 mg cada cuatro semanas.

Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método para inhibir el crecimiento de un tumor de melanoma irresecable en un paciente humano, en donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de: (a) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 5, y (b) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 15, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 17; en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el melanoma irresecable; y en donde al menos una dosis del anticuerpo anti-LAG-3 se administra a una dosis de 160 mg y al menos una dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de 480 mg cada cuatro semanas.

Un aspecto adicional de la invención descrita en este documento se refiere a un método de tratamiento de melanoma irresecable en un paciente humano, en donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de: (a) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 5, y (b) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 15, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 17; en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el melanoma irresecable; y en donde al menos una dosis del anticuerpo anti-LAG-3 se administra a una dosis de 160 mg y al menos una dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de 480 mg cada cuatro semanas.

En algunas modalidades, el paciente tiene 12 años o más. En determinadas modalidades, el paciente tiene entre 12 y 17 años. En modalidades particulares, el tratamiento del sistema anterior es una terapia anti-PD-1 o anti-CTLA-4 adyuvante o neoadyuvante. En otras modalidades, el paciente tiene melanoma en estadio III o IV irresecable confirmado histológicamente. En determinadas modalidades, el paciente tiene un estado funcional del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) de 0 o 1 y/o una puntuación de rendimiento Lansky del 80 % o más. En algunas modalidades, el paciente tiene una enfermedad medible de acuerdo con lo determinado por los Criterios de Evaluación de Respuesta en Tumores Sólidos (RECIST) versión 1.1.

En algunas modalidades, las células de linfocitos infiltrantes de tumor del paciente expresan LAG-3. En determinadas modalidades, la expresión de LAG-3 se determina a partir de una muestra de tejido de prueba de biopsia de tumor. En una modalidad, la muestra de tejido de prueba es una muestra embebida en parafina fijada con formalina (FFPE). En ciertas modalidades, la expresión de LAG-3 se determina midiendo la expresión de proteína o ARN en la muestra de tejido de prueba. En algunas modalidades, la expresión de LAG-3 se detecta mediante un ensayo capaz de detectar el nivel de proteína LAG-3 en la muestra de tejido de prueba. En determinadas modalidades, la expresión de LAG-3 se detecta mediante un ensayo de inmunohistoquímica. En algunas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica es un ensayo monoplex. En otras modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica es un ensayo multiplex. En modalidades particulares, el ensayo de inmunohistoquímica

comprende poner en contacto la muestra de tumor con 17B4, SP346, 11E3, 874501 o EPR4392 (2) linfocitos infiltrantes de tumores asociados a anticuerpos monoclonales anti-LAG-3 humanos que expresan LAG-3.

En una modalidad, las células tumorales del paciente expresan PD-L1. En determinadas modalidades, más del 1 % de las células tumorales del paciente expresan PD-L1. En algunas modalidades, la expresión de PD-L1 se determina a partir de una muestra de tejido de prueba de biopsia de tumor. En ciertas modalidades, la muestra de tejido de prueba es una muestra embebida en parafina fijada con formalina (FFPE). En modalidades particulares, la expresión de PD-L1 se determina midiendo la expresión de proteína o ARN en la muestra de tejido de prueba. En algunas modalidades, la expresión de PD-L1 se detecta mediante un ensayo capaz de detectar el nivel de proteína PD-L1 en la muestra de tejido de prueba. En determinadas modalidades, la expresión de PD-L1 se detecta mediante un ensayo de inmunohistoquímica. En modalidades particulares, el ensayo de inmunohistoquímica es un ensayo monoplex. En determinadas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica es un ensayo multiplex. En algunas modalidades, las células tumorales del paciente contienen una mutación BRAF V600.

Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método para inhibir el crecimiento de un tumor de melanoma metastásico en un paciente humano, en donde el método comprende: (a) determinar la expresión de LAG-3 en los linfocitos infiltrantes de tumor del paciente, expresión de PD-L1 en las células tumorales del paciente y/o determinación de la presencia de una mutación de BRAF V600 en las células tumorales del paciente; y (b) administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de: (i) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 5, y (ii) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 15, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 17; comprendiendo el método administrar al paciente 160 mg del anticuerpo anti-LAG-3 y 480 mg del anticuerpo anti-PD-1, en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el melanoma metastásico.

Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método de tratamiento de melanoma metastásico en un paciente humano, el método comprende: (a) determinar la expresión de LAG-3 en los linfocitos infiltrantes de tumor del paciente, la expresión de PD-L1 en las células tumorales y/o determinar la presencia de una mutación BRAF V600 en las células tumorales del paciente; y (b) administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de: (i) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 5, y (ii) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 15, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 17; comprendiendo el método administrar al paciente 160 mg del anticuerpo anti-LAG-3 y 480 mg del anticuerpo anti-PD-1, en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el melanoma metastásico.

Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método para inhibir el crecimiento de un tumor de melanoma irreseccable en un paciente humano, en donde el método comprende: (a) determinar la expresión de LAG-3 en los linfocitos infiltrantes de tumor del paciente, la expresión de PD-L1 en las células tumorales del paciente y/o determinación de la presencia de una mutación de BRAF V600 en las células tumorales del paciente; y (b) administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de: (i) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 5, y (ii) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 15, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 17; comprendiendo el método administrar al paciente 160 mg del anticuerpo anti-LAG-3 y 480 mg del anticuerpo anti-PD-1, en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el melanoma irreseccable.

Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método de tratamiento de melanoma irreseccable en un paciente humano, en donde el método comprende: (a) determinar la expresión de LAG-3 en los linfocitos infiltrantes de tumor del paciente, la expresión de PD-L1 en las células tumorales y/o determinar la presencia de una mutación BRAF V600 en las células tumorales del paciente; y (b) administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de: (i) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 5, y (ii) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 15, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 17; comprendiendo el método administrar al paciente 160 mg del anticuerpo anti-LAG-3 y 480 mg del anticuerpo anti-PD-1, en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el melanoma irreseccable.

Otro aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método para inhibir el crecimiento de un tumor de melanoma metastásico en un paciente humano, en donde el método comprende: (a) determinar la expresión de LAG-3 en los linfocitos infiltrantes de tumor del paciente, la expresión de PD-L1 en las células tumorales del paciente y/o determinación de la presencia de una mutación de BRAF V600 en las células tumorales del paciente; y (b) administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de: (i) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 5, y (ii) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 15, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 17; en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el melanoma metastásico; y en donde al menos una dosis del anticuerpo anti-LAG-3 se administra a una dosis de 160 mg y al menos una dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de 480 mg cada cuatro semanas.

Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método de tratamiento de melanoma metastásico en un paciente humano, el método comprende: (a) determinar la expresión de LAG-3 en los linfocitos infiltrantes de tumor del paciente, la expresión de PD-L1 en las células tumorales y/o determinar la presencia de una mutación BRAF V600 en las células tumorales del paciente; y (b) administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de: (i) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 5, y (ii) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 15, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 17; en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el melanoma metastásico; y en donde al menos una dosis del anticuerpo anti-LAG-3 se administra a una dosis de 160 mg y al menos una dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de 480 mg cada cuatro semanas.

Otro aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método para inhibir el crecimiento de un tumor de melanoma irreseccable en un paciente humano, en donde el método comprende: (a) determinar la expresión de LAG-3 en los linfocitos infiltrantes de tumor del paciente, la expresión de PD-L1 en las células tumorales del paciente y/o determinar la presencia de una mutación de BRAF V600 en las células tumorales del paciente; y (b) administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de: (i) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 5, y (ii) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 15, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 17; en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el melanoma irreseccable; y en donde al menos una dosis del anticuerpo anti-LAG-3 se administra a una dosis de 160 mg y al menos una dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de 480 mg cada cuatro semanas.

Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método de tratamiento de melanoma irreseccable en un paciente humano, en donde el método comprende: (a) determinar la expresión de LAG-3 en los linfocitos infiltrantes de tumor del paciente, la expresión de PD-L1 en las células tumorales y/o determinar la presencia de una mutación BRAF V600 en las células tumorales del paciente; y (b) administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de: (i) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 5, y (ii) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 15, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 17; en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el melanoma irreseccable; y en donde al menos una dosis del anticuerpo anti-LAG-3 se administra a una dosis de 160 mg y al menos una dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de 480 mg cada cuatro semanas.

Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método de tratamiento de melanoma irreseccable en un paciente humano, en donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de: (i) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tienen la secuencia indicada en SEQ ID NO: 5, y (ii) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 15, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene el conjunto de secuencias adelante en SEQ ID NO: 17; en donde el paciente no ha recibido un tratamiento previo para el melanoma irreseccable; y en donde al menos una dosis del anticuerpo anti-LAG-3 se administra a una dosis de 160 mg y al menos una dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de 480 mg cada cuatro

semanas. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 y el anticuerpo anti-PD-1 son un tratamiento de primera línea.

5 Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método de tratamiento de melanoma irresecable en un paciente humano, en donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de: (i) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende (a) una CDR1 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 7; (b) una CDR2 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 8; (c) una CDR3 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 9; (d) una CDR1 de la región variable de la cadena ligera que  
10 comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 10; y (e) una CDR2 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia establecida en SEQ ID NO: 11, y (ii) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende (a) una CDR1 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia establecida en SEQ ID NO: 19; (b) una CDR2 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 20; (c) una CDR3 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 21; (d) una  
15 CDR1 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 22; (e) una CDR2 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 23; y (f) una CDR3 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 24, en donde el paciente no ha recibido un tratamiento previo para el melanoma irresecable; y en donde al menos una dosis del anticuerpo anti-LAG-3 se administra a una dosis de 160 mg y al menos una dosis del anticuerpo anti-PD-1 se  
20 administra a una dosis de 480 mg cada cuatro semanas. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 y el anticuerpo anti-PD-1 se administran como tratamiento de primera línea.

En algunas modalidades del presente documento, el anticuerpo anti-LAG-3 comprende cadenas ligeras y pesadas que comprenden las secuencias expuestas en SEQ ID NO: 30 y 2, respectivamente.

25 Un aspecto de la invención descrita en el presente documento se refiere a un método para tratar el melanoma irresecable en un paciente humano, el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de relatlimab y nivolumab, en donde el paciente no ha recibido tratamiento previo para el melanoma irresecable; y en donde al menos una dosis de relatlimab se administra a una dosis de 160 mg y al menos una dosis de nivolumab se  
30 administra a una dosis de 480 mg cada cuatro semanas.

Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método de tratamiento de melanoma irresecable en un paciente humano, en donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de: (i) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende cadenas pesada y ligera que comprenden las secuencias  
35 indicadas en SEQ ID NO: 30 y 2, respectivamente, y (ii) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende las secuencias indicadas en SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente, en donde el paciente tiene no recibió tratamiento previo para el melanoma irresecable; y en donde al menos una dosis del anticuerpo anti-LAG-3 se administra a una dosis de 160 mg y al menos una dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de 480 mg cada cuatro semanas.

40 Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método para tratar el melanoma metastásico en un paciente humano, el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de relatlimab y nivolumab, en donde el paciente no ha recibido tratamiento previo para metástasis. melanoma; y en donde al menos una dosis de relatlimab se administra a una dosis de 160 mg y al menos una dosis de nivolumab se  
45 administra a una dosis de 480 mg cada cuatro semanas.

Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método de tratamiento de melanoma metastásico en un paciente humano, en donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de: (i) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende cadenas pesada y ligera que comprenden las secuencias  
50 indicadas en SEQ ID NO: 30 y 2, respectivamente, y (ii) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende las secuencias indicadas en SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente, en donde el paciente tiene no recibió tratamiento previo para el melanoma metastásico; y en donde al menos una dosis del anticuerpo anti-LAG-3 se administra a una dosis de 160 mg y al menos una dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de 480 mg cada cuatro semanas.

55 Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método de tratamiento de melanoma metastásico o irresecable en un paciente humano, en donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de relatlimab y nivolumab, en donde el paciente no ha recibido tratamiento previo. para melanoma irresecable; y en donde al menos una dosis de relatlimab se administra a una dosis de 160 mg y al menos una dosis de nivolumab se administra a una dosis de 480 mg cada cuatro semanas. Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un método de tratamiento de melanoma metastásico o irresecable  
60 en un paciente humano, en donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de: (i) un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende cadenas pesada y ligera que comprenden las secuencias indicadas en SEQ ID NO: 30 y 2, respectivamente, y (ii) un anticuerpo anti-PD-1 que comprende las secuencias indicadas en SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente, en donde el paciente no recibió tratamiento previo por melanoma metastásico o irresecable; y en donde al menos una dosis del anticuerpo anti-LAG-3 se administra a una dosis de 160 mg y al  
65 menos una dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de 480 mg cada cuatro semanas.

Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un producto que comprende relatlimab y nivolumab para uso combinado en el tratamiento de melanoma metastásico o irreseccable en un paciente humano que no ha recibido tratamiento previo para melanoma metastásico o irreseccable; en donde el tratamiento comprende administrar al menos una dosis de relatlimab a una dosis de 160 mg y al menos una dosis de nivolumab a una dosis de 480 mg cada cuatro semanas.

Un aspecto de la invención descrita en este documento se refiere a un producto que comprende un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende cadenas ligeras y pesadas que comprenden las secuencias establecidas en SEQ ID NO: 30 y 2, respectivamente, y un anticuerpo anti-PD-1 que comprende las secuencias expuestas en SEQ ID NO: 13 y 14, respectivamente, para uso combinado en el tratamiento de melanoma metastásico o irreseccable en un paciente humano que no ha recibido tratamiento previo para melanoma metastásico o irreseccable; en donde el tratamiento comprende administrar al menos una dosis del anticuerpo anti-LAG-3 a una dosis de 160 mg y al menos una dosis del anticuerpo anti-PD-1 a una dosis de 480 mg cada cuatro semanas.

Un aspecto de la invención descrita en el presente documento se refiere a un producto que comprende un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende (a) una CDR1 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 7; (b) una CDR2 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 8; (c) una CDR3 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 9; (d) una CDR1 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 10; (e) una CDR2 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia establecida en SEQ ID NO: 11, y un anticuerpo anti-PD-1 que comprende (a) una CDR1 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia establecida en SEQ ID NO: 19; (b) una CDR2 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 20; (c) una CDR3 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 21; (d) una CDR1 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 22; (e) una CDR2 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 23; y (f) una CDR3 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia establecida en SEQ ID NO: 24, para uso combinado en el tratamiento de melanoma metastásico o irreseccable en un paciente humano que no ha recibido tratamiento previo para melanoma metastásico o irreseccable; en donde el tratamiento comprende administrar al menos una dosis del anticuerpo anti-LAG-3 a una dosis de 160 mg y al menos una dosis del anticuerpo anti-PD-1 a una dosis de 480 mg cada cuatro semanas.

### Descripción detallada de la invención

En un aspecto, la presente divulgación se refiere a un método mejorado de tratamiento de tumores malignos en un paciente humano. En particular, la presente divulgación muestra que la administración de un anticuerpo anti-LAG-3 en combinación con un anticuerpo anti-PD-1, logra resultados de tratamiento sorprendentemente mejorados en una población de pacientes que no han recibido terapia sistémica previa. En consecuencia, en un aspecto, la invención descrita en este documento se refiere a un método para tratar melanoma metastásico o irreseccable no tratado previamente mediante la administración de una combinación de un inhibidor de LAG-3 (por ejemplo, anticuerpo anti-LAG-3) y un inhibidor de la vía PD-1 (por ejemplo, un anticuerpo anti-PD-1), como se define en las reivindicaciones.

### 1. Definiciones

Para que la presente invención pueda entenderse más fácilmente, primero se definen ciertos términos. Tal como se usa en esta solicitud, salvo que se indique expresamente lo contrario en este documento, cada uno de los siguientes términos tendrá el significado que se indica a continuación. Se establecen definiciones adicionales a lo largo de la solicitud.

Un "anticuerpo" (Ab) incluirá, sin limitación, una inmunoglobulina glicoproteica que se une específicamente a un antígeno y comprende al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro. Cada cadena H comprende una región variable de la cadena pesada (abreviada aquí como  $V_H$ ) y una región constante de cadena pesada. La región constante de la cadena pesada comprende tres dominios constantes,  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  y  $C_{H3}$ . Cada cadena ligera comprende una región variable de la cadena ligera (abreviada aquí como  $V_L$ ) y una región constante de cadena ligera. La región constante de la cadena ligera comprende un dominio constante,  $C_L$ . Las regiones  $V_H$  y  $V_L$  pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDRs), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FRs). Cada  $V_H$  y  $V_L$  comprende tres CDRs y cuatro FRs, dispuestas del extremo amino-terminal al extremo carboxi-terminal en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las regiones variables de las cadenas pesada y ligera contienen un dominio de unión que interactúa con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos pueden mediar en la unión de la inmunoglobulina a tejidos o factores del anfitrión, incluidas diversas células del sistema inmunitario (por ejemplo, células efectoras) y el primer componente (C1q) del sistema del complemento clásico. Una cadena pesada puede tener lisina C-terminal o no. A menos que se especifique lo contrario en el presente documento, los aminoácidos en las regiones variables se numeran usando el sistema de numeración de Kabat y los de las regiones constantes se numeran usando el sistema EU. En una modalidad, un anticuerpo es un anticuerpo de longitud completa.

Una inmunoglobulina puede derivar de cualquiera de los isotipos comúnmente conocidos, incluidos, entre otros, IgA, IgA secretora, IgG e IgM. Las subclases de IgG también son bien conocidas por los expertos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 humanas. "Isotipo" se refiere a la clase o subclase de anticuerpos (por ejemplo, IgM o IgG1) que está codificada por los genes de la región constante de la cadena pesada. El término "anticuerpo" incluye, a modo de ejemplo, anticuerpos monoclonales y policlonales; anticuerpos quiméricos y humanizados; anticuerpos humanos o no humanos; anticuerpos totalmente sintéticos; y anticuerpos monocatenarios. Un anticuerpo no humano puede humanizarse mediante métodos recombinantes para reducir su inmunogenicidad en el hombre. Cuando no se indique expresamente, y a menos que el contexto indique lo contrario, el término "anticuerpo" incluye anticuerpos monoespecíficos, biespecíficos o multiespecíficos, así como un anticuerpo monocatenario. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico. En otras modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo monoespecífico. En un aspecto, el isotipo de la región constante es IgG4 con una mutación en los residuos de aminoácidos 228, por ejemplo, S228P.

Como se usa en este documento, un "anticuerpo IgG" tiene la estructura de un anticuerpo IgG natural, es decir, tiene el mismo número de cadenas ligeras y pesadas y enlaces disulfuro que un anticuerpo IgG natural de la misma subclase. Por ejemplo, un anticuerpo anti-LAG-3 IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 consiste en de dos cadenas pesadas (HCs) y dos cadenas ligeras (LCs), en donde las dos cadenas pesadas y cadenas ligeras están unidas por el mismo número y ubicación de puentes disulfuro que ocurren en los anticuerpos nativos IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, respectivamente (a menos que el anticuerpo haya sido mutado para modificar los enlaces disulfuro).

Un "anticuerpo aislado" se refiere a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigénicas (por ejemplo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a LAG-3 está sustancialmente libre de anticuerpos que no se unen específicamente a LAG-3). Sin embargo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a LAG-3 puede tener reactividad cruzada con otros antígenos, tal como moléculas de LAG-3 de diferentes especies. Además, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente exento de otro material celular y/o productos químicos.

El anticuerpo puede ser un anticuerpo que haya sido alterado (por ejemplo, por mutación, eliminación, sustitución, conjugación a un resto que no es de anticuerpo). Por ejemplo, un anticuerpo puede incluir uno o más aminoácidos variantes (en comparación con un anticuerpo de origen natural) que cambien una propiedad (por ejemplo, una propiedad funcional) del anticuerpo. Por ejemplo, en la técnica se conocen numerosas alteraciones de este tipo que afectan, por ejemplo, la vida media, la función efectora y/o las respuestas inmunes al anticuerpo en un paciente. El término anticuerpo también incluye construcciones de polipéptidos artificiales que comprenden al menos un sitio de unión a antígeno derivado de anticuerpo.

El término "anticuerpo monoclonal" ("mAb") se refiere a una preparación no natural de moléculas de anticuerpo de composición molecular única, es decir, moléculas de anticuerpo cuyas secuencias primarias son esencialmente idénticas y que exhiben una única especificidad y afinidad de unión para un epítipo particular. Un mAb es un ejemplo de un anticuerpo aislado. Los MAb pueden producirse mediante hibridomas, recombinantes, transgénicos u otras técnicas conocidas por los expertos en la técnica.

Un anticuerpo "humano" (HuMAb) se refiere a un anticuerpo que tiene regiones variables en las que tanto las regiones marco como CDR se derivan de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana. Además, si el anticuerpo contiene una región constante, la región constante también se deriva de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana. Los anticuerpos humanos de la invención pueden incluir residuos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica de sitio *in vitro* o por mutación somática *in vivo*). Sin embargo, el término "anticuerpo humano", tal como se usa en el presente documento, no pretende incluir anticuerpos en los que se hayan injertado secuencias de CDR derivadas de la línea germinal de otra especie de mamífero, tal como un ratón, en secuencias marco humanas. Los términos anticuerpos "humanos" y anticuerpos "completamente humanos" se usan como sinónimos.

Un "anticuerpo humanizado" se refiere a un anticuerpo en donde algunos, la mayoría o todos los aminoácidos fuera de los dominios de CDR de un anticuerpo no humano se reemplazan con los correspondientes aminoácidos derivados de inmunoglobulinas humanas. En una modalidad de una forma humanizada de un anticuerpo, algunos, la mayoría o todos los aminoácidos fuera de los dominios de CDR se han reemplazado con aminoácidos de inmunoglobulinas humanas, mientras que algunos, la mayoría o todos los aminoácidos dentro de una o más regiones de CDR no han cambiado. Se permiten pequeñas adiciones, eliminaciones, inserciones, sustituciones o modificaciones de aminoácidos siempre que no anulen la capacidad del anticuerpo para unirse a un antígeno particular. Un anticuerpo "humanizado" conserva una especificidad antigénica similar a la del anticuerpo original.

Un "anticuerpo quimérico" se refiere a un anticuerpo en el que las regiones variables se derivan de una especie y las regiones constantes se derivan de otra especie, tal como un anticuerpo en el que las regiones variables se derivan de un anticuerpo de ratón y las regiones constantes se derivan de un anticuerpo humano.

Un anticuerpo "anti-antígeno" se refiere a un anticuerpo que se une específicamente al antígeno. Por ejemplo, un anticuerpo anti-LAG-3 se une específicamente a LAG-3.

Una "porción de unión a antígeno" de un anticuerpo (también denominada "fragmento de unión a antígeno") se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que conservan la capacidad de unirse específicamente al antígeno unido por el anticuerpo completo. Se ha demostrado que la función de unión al antígeno de un anticuerpo puede llevarse a cabo mediante fragmentos o porciones de un anticuerpo de longitud completa. Ejemplos de fragmentos de unión incluidos en el término "porción de unión a antígeno" o "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo anti-LAG-3 descrito en el presente documento, incluye:

(1) un fragmento Fab (fragmento de escisión de papaína) o un fragmento monovalente similar que consiste en los dominios VL, VH, LC y CH1;

(2) un fragmento F(ab')<sub>2</sub> (fragmento de escisión de pepsina) o un fragmento bivalente similar que comprende dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra;

(3) un fragmento Fd que consiste en los dominios VH y CH1;

(4) un fragmento Fv que consiste en los dominios VL y VH de un solo brazo de un anticuerpo,

(5) un fragmento de anticuerpo de dominio único (dAb) (Ward *et al.*, (1989) *Nature* 341: 544-46), que consiste en un dominio VH;

(6) un anticuerpo de dominio bi-simple que consiste en dos dominios VH unidos por una bisagra (anticuerpos de reorientación de afinidad dual (DARTs));

(7) una inmunoglobulina de dominio variable dual;

(8) una región determinante de complementariedad (CDR) aislada; y

(9) una combinación de dos o más CDRs aisladas, que pueden unirse opcionalmente mediante un enlazador sintético. Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv, VL y VH, están codificados por genes separados, pueden unirse, usando métodos recombinantes, mediante un enlazador sintético que les permita fabricarse como una sola cadena de proteína en donde VL y las regiones VH se emparejan para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv de cadena sencilla (scFv); véase, por ejemplo, Bird *et al.* (1988) *Science* 242: 423-426; y Huston *et al.* (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 5879-5883). También se pretende que esos anticuerpos monocatenarios estén incluidos dentro del término "porción de unión a antígeno" o "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo. Estos fragmentos de anticuerpos se obtienen usando técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica, y los fragmentos se seleccionan para determinar su utilidad de la misma manera que los anticuerpos intactos. Las porciones de unión a antígeno se pueden producir mediante técnicas de ADN recombinante o mediante escisión enzimática o química de inmunoglobulinas intactas. En algunas modalidades, un anticuerpo es un fragmento de unión a antígeno.

El término "LAG-3" se refiere al gen-3 de activación de linfocitos. El término "LAG-3" incluye variantes, isoformas, homólogos, ortólogos y parálogos. Por ejemplo, los anticuerpos específicos para una proteína LAG-3 humana pueden, en ciertos casos, reaccionar de forma cruzada con una proteína LAG-3 de una especie distinta a la humana. En otras modalidades, los anticuerpos específicos para una proteína LAG-3 humana pueden ser completamente específicos para la proteína LAG-3 humana y pueden no exhibir especies u otros tipos de reactividad cruzada, o pueden reaccionar de forma cruzada con LAG-3 de ciertas otras especies, pero no todas las demás especies (por ejemplo, reacción cruzada con LAG-3 de mono pero no con LAG-3 de ratón). El término "LAG-3 humana" se refiere a la secuencia humana LAG-3, tal como la secuencia de aminoácidos completa de LAG-3 humana que tiene el número de registro de GenBank NP\_002277. El término "LAG-3 de ratón" se refiere a la secuencia de LAG-3 de ratón, tal como la secuencia de aminoácidos completa de LAG-3 de ratón que tiene el número de registro de GenBank NP\_032505. LAG-3 también se conoce en la técnica como, por ejemplo, CD223. La secuencia de LAG-3 humana puede diferir de la LAG-3 humana del número de registro de GenBank NP\_002277 por tener, por ejemplo, mutaciones conservadas o mutaciones en regiones no conservadas y la LAG-3 tiene sustancialmente la misma función biológica que la LAG-3 humana que tiene el número de registro de GenBank NP\_002277. Por ejemplo, una función biológica del LAG-3 humano es tener un epítipo en el dominio extracelular de LAG-3 que se une específicamente a un anticuerpo de la presente invención o una función biológica del LAG-3 humano se une a moléculas del MHC de clase II.

Una secuencia de LAG-3 humana particular será generalmente al menos un 90 % idéntica en la secuencia de aminoácidos a la LAG-3 humana de número de registro en GenBank NP\_002277 y contiene residuos de aminoácidos que identifican la secuencia de aminoácidos como humana en comparación con secuencias de aminoácidos de LAG-3 de otras especies (por ejemplo, murinas). En ciertos casos, una LAG-3 humana puede ser al menos aproximadamente 95 %, o incluso al menos aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, o incluso al menos aproximadamente 98 %, idéntica a la LAG-3 humana de número de registro en GenBank NP\_002277.

aproximadamente 98 % o aproximadamente 99 % idéntica en secuencia de aminoácidos a LAG-3 de GenBank No. de registro NP\_002277. En determinadas modalidades, una secuencia de LAG-3 humana no mostrará más de 10 diferencias de aminoácidos con respecto a la secuencia de LAG-3 del número de registro de GenBank NP\_002277. En determinadas modalidades, el LAG-3 humano puede presentar no más de 5, o incluso no más de 4, 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con respecto a la secuencia de LAG-3 del número de registro de GenBank NP\_002277. El porcentaje de identidad se puede determinar como se describe en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, los términos "muerte programada 1", "muerte celular programada 1", "Proteína PD-1", "PD-1", "PD1", "PDCD1", "hPD-1" y "hPD-I" se usan indistintamente e incluyen variantes, isoformas, especies homólogas de PD-1 humana y análogos que tienen al menos un epítipo común con PD-1. La secuencia completa de PD-1 se puede encontrar con el número de registro de GenBank U64863.

La proteína muerte programada 1 (PD-1) es un miembro inhibidor de la familia de receptores CD28, que también incluye CD28, CTLA-4, ICOS y BTLA. PD-1 se expresa en células B activadas, células T y células mieloides (Agata *et al.*, arriba; Okazaki *et al.* (2002) *Curr. Opin. Immunol.* 14: 391779-82; Bennett *et al.* (2003) *J Immunol* 170: 711-8). Los miembros iniciales de la familia, CD28 e ICOS, se descubrieron por efectos funcionales sobre el aumento de la proliferación de células T después de la adición de anticuerpos monoclonales (Hutloff *et al.* *Nature* (1999); 397: 263-266; Hansen *et al.* *Immunogenetics* (1980); 10: 247-260). La PD-1 se descubrió mediante el tamizado de la expresión diferencial en células apoptóticas (Ishida *et al.* *EMBO J* (1992); 11: 3887-95). Los demás miembros de la familia, CTLA-4 y BTLA, se descubrieron mediante el tamizado de la expresión diferencial en linfocitos T citotóxicos y células TH1, respectivamente. CD28, ICOS y CTLA-4 tienen todos un residuo de cisteína desapareado que permite la homodimerización. Por el contrario, se sugiere que PD-1 existe como un monómero, que carece de la característica del residuo de cisteína desapareado en otros miembros de la familia CD28.

El gen PD-1 es una proteína transmembrana de tipo I de 55 kDa que forma parte de la superfamilia del gen Ig (Agata *et al.* (1996) *Int Immunol* 8: 765-72). PD-1 contiene un motivo inhibidor de tirosina inmunorreceptor proximal de membrana (ITIM) y un motivo de interruptor con base en tirosina distal de membrana (ITSM) (Thomas, ML (1995) *J Exp Med* 181: 1953-6; Vivier, E y Daeron, M (1997) *Immunol Today* 18: 286-91). Aunque estructuralmente similar a CTLA-4, PD-1 carece del motivo MYPPPY (SEQ ID NO: 32) que es crítico para la unión de B7-1 y B7-2. Se han identificado dos ligandos para PD-1, PD-L1 y PD-L2, que se ha demostrado que regulan negativamente la activación de las células T tras la unión a PD-1 (Freeman *et al.* (2000) *J Exp Med* 192: 1027-34; Latchman *et al.* (2001) *Nat Immunol* 2: 261-8; Carter *et al.* (2002) *Eur J Immunol* 32: 634-43). Tanto PD-L1 como PD-L2 son homólogos de B7 que se unen a PD-1, pero no a otros miembros de la familia CD28. PD-L1 es abundante en una variedad de cánceres humanos (Dong *et al.* (2002) *Nat. Med.* 8: 787-9). La interacción entre PD-1 y PD-L1 da como resultado una disminución de los linfocitos que se infiltran en el tumor, una disminución de la proliferación mediada por el receptor de células T y una evasión inmune por parte de las células cancerosas (Dong *et al.* (2003) *J. Mol. Med.* 81: 281-7; Blank *et al.* (2005) *Cancer Immunol. Immunother.* 54: 307-314; Konishi *et al.* (2004) *Clin. Cancer Res.* 10: 5094-100). La inmunosupresión se puede revertir inhibiendo la interacción local de PD-1 con PD-L1, y el efecto es aditivo cuando también se bloquea la interacción de PD-1 con PD-L2 (Iwai *et al.* (2002) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 99: 12293-7; Brown *et al.* (2003) *J. Immunol.* 170: 1257-66).

De acuerdo con el hecho de que PD-1 es un miembro inhibidor de la familia CD28, los animales deficientes en PD-1 desarrollan varios fenotipos autoinmunes, que incluyen cardiomiopatía autoinmune y un síndrome similar al lupus con artritis y nefritis (Nishimura *et al.* (1999) *Immunity* 11: 141-51; Nishimura *et al.* (2001) *Science* 291: 319-22). Además, se ha descubierto que la PD-1 desempeña un papel en la encefalomiелitis autoinmune, el lupus eritematoso sistémico, la enfermedad de injerto contra anfitrión (EICH), la diabetes tipo I y la artritis reumatoide (Salama *et al.* (2003) *J Exp Med* 198: 71-78; Prokunina y Alarcon-Riquelme (2004) *Hum Mol Genet* 13: R143; Nielsen *et al.* (2004) *Lupus* 13: 510). En una línea tumoral de células B murinas, se demostró que el ITSM de PD-1 es esencial para bloquear el flujo de Ca<sup>2+</sup> mediado por BCR y la fosforilación de tirosina de moléculas efectoras corriente abajo (Okazaki *et al.* (2001) *PNAS* 98: 13866-71).

El "ligando-1 de muerte programada (PD-L1)" es uno de los dos ligandos de glicoproteína de la superficie celular para PD-1 (el otro es PD-L2) que regula negativamente la activación de las células T y la secreción de citocinas al unirse a PD-1. El término "PD-L1" como se usa en este documento incluye PD-L1 humano (hPD-L1), variantes, isoformas y homólogos de especie de hPD-L1 y 5 análogos que tienen al menos un epítipo común con hPD-L1. La secuencia completa de hPD-L1 se puede encontrar con el número de registro de GenBank Q9NZQ7.

Los términos "ligando-2 de muerte programada" y "PD-L2" como se usan en este documento incluyen PD-L2 humano (hPD-L2), variantes, isoformas y homólogos de especie de hPD-L2, y análogos que tienen al menos un epítipo común con hPD-L2. La secuencia completa de hPD-L2 se puede encontrar en número de registro en GenBank Q9BQ51.

Un "paciente", tal como se usa en el presente documento, incluye a cualquier paciente que padezca un cáncer (por ejemplo, melanoma metastásico o irrecusable). Los términos "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente en este documento.

"Administrar" se refiere a la introducción física de una composición que comprende un agente terapéutico a un sujeto, usando cualquiera de los diversos métodos y sistemas de administración conocidos por los expertos en la técnica. Las vías de administración para las formulaciones descritas en el presente documento incluyen vías de administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, espinal u otras vías de administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección o infusión. La frase "administración parenteral", tal como se usa en este documento, significa modos de administración distintos de la administración enteral y tópica, generalmente por inyección, e incluye, sin limitación, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intralinfática, intralesional, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, inyección e infusión intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, epidural e intraesternal, así como electroporación *in vivo*. En algunas modalidades, la formulación se administra por vía no parenteral, en algunas modalidades, por vía oral. Otras rutas no parenterales incluyen una vía de administración tópica, epidérmica o mucosa, por ejemplo, intranasal, vaginal, rectal, sublingual o tópica. La administración también se puede llevar a cabo, por ejemplo, una vez, una pluralidad de veces y/o durante uno o más períodos prolongados.

"Tratamiento" o "terapia" de un sujeto se refiere a cualquier tipo de intervención o proceso llevado a cabo en, o la administración de un agente activo a, el sujeto con el objetivo de revertir, aliviar, mejorar, inhibir, ralentizar la progresión, desarrollo, gravedad o recurrencia de un síntoma, complicación o afección, o indicios bioquímicos asociados con una enfermedad. Los criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos (RECIST) son una medida de la eficacia del tratamiento y son reglas establecidas que definen cuándo los tumores responden, se estabilizan o progresan durante el tratamiento. RECIST 1.1 es la directriz actual para la medición de tumores sólidos y las definiciones para la evaluación objetiva del cambio en el tamaño del tumor para su uso en ensayos clínicos de cáncer pediátrico y en adultos. El estado funcional del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) es una escala de numeración que se usa para definir la población de pacientes que se estudiará en un ensayo, de modo que pueda reproducirse uniformemente entre los médicos que inscriben a los pacientes. En pacientes pediátricos, la Escala de desempeño de Lansky es un método para describir el estado funcional en niños. Se obtuvo y se validó internamente en niños con cáncer para evaluar la respuesta a las terapias y el estado general.

Como se usa en el presente documento, "tratamiento eficaz" se refiere a un tratamiento que produce un efecto beneficioso, por ejemplo, mejora de al menos un síntoma de una enfermedad o trastorno. Un efecto beneficioso puede tomar la forma de una mejora con respecto al valor inicial, es decir, una mejora con respecto a una medición u observación llevada a cabo antes del inicio de la terapia de acuerdo con el método. Un efecto beneficioso también puede tomar la forma de detener, ralentizar, retardar o estabilizar una progresión deletérea de un marcador de tumor sólido. El tratamiento eficaz puede referirse al alivio de al menos un síntoma de un tumor sólido. Tal tratamiento eficaz puede, por ejemplo, reducir el dolor del paciente, reducir el tamaño y/o el número de lesiones, puede reducir o prevenir la metástasis de un tumor y/o puede ralentizar el crecimiento del tumor.

El término "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad de un agente que proporciona el resultado biológico, terapéutico y/o profiláctico deseado. Ese resultado puede ser reducción, mejora, paliación, disminución, retraso y/o alivio de uno o más de los signos, síntomas o causas de una enfermedad, o cualquier otra alteración deseada de un sistema biológico. En referencia a los tumores sólidos, una cantidad eficaz comprende una cantidad suficiente para hacer que un tumor se encoja y/o disminuya la tasa de crecimiento del tumor (por ejemplo, para suprimir el crecimiento del tumor) o para retrasar otra proliferación celular no deseada. En algunas modalidades, una cantidad eficaz es una cantidad suficiente para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor. Puede administrarse una cantidad eficaz en una o más administraciones. La cantidad eficaz del fármaco o composición puede: (i) reducir el número de células cancerosas; (ii) reducir el tamaño del tumor; (iii) inhibir, retrasar, ralentizar hasta cierto punto y puede detener la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos; (iv) inhibir (es decir, ralentizar hasta cierto punto y puede detener la metástasis del tumor); (v) inhibir el crecimiento del tumor; (vi) prevenir o retrasar la aparición y/o recurrencia del tumor, y/o (vii) aliviar en cierta medida uno o más de los síntomas asociados con el cáncer. En un ejemplo, una "cantidad eficaz" es la cantidad de anticuerpo anti-LAG-3 y la cantidad de anticuerpo anti-PD-1, en combinación, clínicamente probado para afectar una disminución significativa en cáncer o ralentización de la progresión del cáncer, tal como un tumor sólido avanzado. Como se usa en este documento, los términos "dosis fija", "dosis simple" y "dosis simple-fija" se usan indistintamente y se refieren a una dosis que se administra a un paciente sin tener en cuenta el peso o el área de superficie corporal (BSA) del paciente. Por lo tanto, la dosis fija o plana no se proporciona como una dosis de mg/kg, sino como una cantidad absoluta del agente (por ejemplo, el anti-LAG-3 y anticuerpo anti-PD-1). Por ejemplo, una persona de 60 kg y una persona de 100 kg recibirían la misma dosis de la composición (por ejemplo, 480 mg de un anticuerpo anti-PD-1 y 160 mg de un anticuerpo anti-LAG-3 en un único vial de formulación de dosificación fija).

El uso del término "combinación de dosis fija" con respecto a una composición de la invención significa que dos o más anticuerpos diferentes en una única composición están presentes en la composición en proporciones (fijas) particulares entre sí. En algunas modalidades, la dosis fija se basa en el peso (por ejemplo, mg) de los anticuerpos. En determinadas modalidades, la dosis fija se basa en la concentración (por ejemplo, mg/ml) de los anticuerpos. La relación puede ser al menos aproximadamente 1:1, aproximadamente 1:2, aproximadamente 1:3, aproximadamente 1:4, aproximadamente 1:5, aproximadamente 1:6, aproximadamente 1:7, aproximadamente 1:8, aproximadamente 1:9, aproximadamente 1:10, aproximadamente 1:15, aproximadamente 1:20, aproximadamente 1:30, aproximadamente 1:40, aproximadamente 1:50, aproximadamente 1:60, aproximadamente 1:70, aproximadamente

1:80, aproximadamente 1:90, aproximadamente 1:100, aproximadamente 1:120, aproximadamente 1:140, aproximadamente 1:160, aproximadamente 1:180, aproximadamente 1:200, aproximadamente 200:1, aproximadamente 180:1, aproximadamente 160:1, aproximadamente 140:1, aproximadamente 120:1, aproximadamente 100:1, aproximadamente 90:1, aproximadamente 80:1, aproximadamente 70:1, aproximadamente 60:1, aproximadamente 50:1, aproximadamente 40:1, aproximadamente 30:1, aproximadamente 20:1, aproximadamente 15:1, aproximadamente 10:1, aproximadamente 9:1, aproximadamente 8:1, aproximadamente 7:1, aproximadamente 6:1, aproximadamente 5:1, aproximadamente 4:1, aproximadamente 3:1, o aproximadamente 2:1 mg del primer anticuerpo por mg del segundo anticuerpo. Por ejemplo, la relación 3:1 de un primer anticuerpo y un segundo anticuerpo puede significar que un vial puede contener aproximadamente 240 mg del primer anticuerpo y 80 mg del segundo anticuerpo o aproximadamente 3 mg/ml del primer anticuerpo y 1 mg/ml del segundo anticuerpo.

El término "dosis basada en el peso" como se menciona en el presente documento significa que una dosis que se administra a un paciente se calcula basándose en el peso del paciente. Por ejemplo, cuando un paciente con 60 kg de peso corporal requiere 3 mg/kg de un anticuerpo anti-LAG-3 en combinación con 3 mg/kg de un anticuerpo anti-PD-1, se pueden extraer las cantidades adecuadas del anti-LAG-3. Anticuerpo LAG-3 (es decir, 180 mg) y el anticuerpo anti-PD-1 (es decir, 180 mg) a la vez a partir de una combinación de dosis fija de relación 1:1 de un anticuerpo anti-LAG3 y un anticuerpo anti-PD-1.

El término "supervivencia libre de progresión", que puede abreviarse como PFS, tal como se usa en este documento, se refiere al período de tiempo durante y después del tratamiento de un tumor sólido (es decir, melanoma) que un paciente vive con la enfermedad pero no empeora.

"Intervalo de dosificación", tal como se usa en el presente documento, significa la cantidad de tiempo que transcurre entre varias dosis de una formulación descrita en el presente que se administra a un sujeto. Por lo tanto, el intervalo de dosificación se puede indicar como intervalos.

El término "frecuencia de dosificación" como se usa en este documento se refiere a la frecuencia de administración de dosis de una formulación descrita en este documento en un tiempo dado. La frecuencia de dosificación se puede indicar como el número de dosis por un tiempo determinado, por ejemplo, una vez a la semana o una vez cada dos semanas, etc.

Los términos "aproximadamente una vez a la semana", "una vez aproximadamente cada semana", "una vez aproximadamente cada dos semanas" o cualquier otro término de intervalo de dosificación similar como se usa en este documento significan número aproximado y "aproximadamente una vez a la semana" o "una vez aproximadamente a la semana" puede incluir cada siete días  $\pm$  dos días, es decir, cada cinco días a cada nueve días. La frecuencia de dosificación de "una vez a la semana" puede ser, por tanto, cada cinco días, cada seis días, cada siete días, cada ocho días o cada nueve días. "Una vez cada cuatro semanas" puede incluir cada 28 días  $\pm$  3 días, es decir, cada 25 días a cada 31 días. Aproximaciones similares se aplican, por ejemplo, a una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas, una vez cada cinco semanas, una vez cada seis semanas y una vez cada doce semanas. En algunas modalidades, un intervalo de dosificación de una vez cada seis semanas o una vez cada doce semanas significa que la primera dosis se puede administrar cualquier día de la primera semana, y luego la siguiente dosis se puede administrar cualquier día de la sexta o duodécima semana, respectivamente. En otras modalidades, un intervalo de dosificación de una vez aproximadamente cada seis semanas o una vez aproximadamente cada doce semanas significa que la primera dosis se administra en un día particular de la primera semana (por ejemplo, el lunes) y luego la siguiente dosis se administra el mismo día de la sexta o duodécima semana (es decir, el lunes), respectivamente.

Un "cáncer" se refiere a un amplio grupo de diversas enfermedades caracterizadas por el crecimiento incontrolado de células anormales en el cuerpo. La división y el crecimiento celular no regulados dan como resultado la formación de tumores malignos que invaden los tejidos vecinos y también pueden hacer metástasis en partes distantes del cuerpo a través del sistema linfático o el torrente sanguíneo. Un "cáncer" o "tejido canceroso" puede incluir un tumor.

El término "tumor", tal como se usa en este documento, se refiere a cualquier masa de tejido que resulte del crecimiento o proliferación celular excesiva, ya sea benigna (no cancerosa) o maligna (cancerosa), incluidas las lesiones precancerosas.

El término "positivo para LAG-3" o "expresión positiva para LAG-3", relacionado con la expresión de LAG-3, se refiere a la proporción de células en una muestra de tejido de prueba que comprende células tumorales y células inflamatorias que infiltran el tumor por encima de la cual la muestra de tejido se puntúa como que expresa LAG-3. En algunas modalidades, para la expresión de LAG-3 ensayada por inmunohistoquímica (IHC), el tumor positivo para LAG-3 o el tumor positivo para la expresión de LAG-3 significa que al menos aproximadamente 0.01 %, al menos aproximadamente 0.5 %, al menos aproximadamente 1 %, al menos aproximadamente 2 %, al menos aproximadamente 3 %, al menos aproximadamente 4 %, al menos aproximadamente 5 %, al menos aproximadamente 6 %, al menos aproximadamente 7 %, al menos aproximadamente 8 %, al menos aproximadamente 9 %, al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 15 %, al menos

aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 25 %, al menos aproximadamente 30 %, al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 % o el 100 % del número total de células expresan LAG-3. En otras modalidades, para la expresión de LAG-3 ensayada por inmunohistoquímica (IHC) o citometría de flujo, el tumor positivo para LAG-3 o el tumor positivo para la expresión de LAG-3 significa que al menos aproximadamente 0.01 %, al menos aproximadamente 0.5 %, al menos aproximadamente 1 %, al menos aproximadamente 2 %, al menos aproximadamente 3 %, al menos aproximadamente 4 %, al menos aproximadamente 5 %, al menos aproximadamente 6 %, al menos aproximadamente 7 %, al menos aproximadamente 8 %, al menos aproximadamente 9 %, al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 15 %, al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 25 %, al menos aproximadamente 30 %, al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 % o el 100 % del número total de células inflamatorias asociadas a tumores (por ejemplo, células T, células T CD8+, células T CD4+, células FOXP3+) expresan LAG-3. El tumor positivo para LAG-3 o el tumor positivo para la expresión de LAG-3 también se denominan en este documento como tumor que expresa LAG-3. En algunas modalidades, el tumor positivo para LAG-3 o el tumor positivo para la expresión de LAG-3 significa que al menos aproximadamente 0.1 % a por lo menos aproximadamente 20 % del número total de células expresan LAG-3. En algunas modalidades, un tumor positivo para LAG-3 o un tumor positivo para la expresión de LAG-3 significa que al menos aproximadamente 0.1 % a por lo menos aproximadamente 20 % del número total de células inflamatorias asociadas al tumor (por ejemplo, células T, células T CD8+, Células T CD4+, células FOXP3+) expresan LAG-3. En determinadas modalidades, un tumor positivo para LAG-3 o un tumor positivo para la expresión de LAG-3 significa que al menos aproximadamente 0.1 % a por lo menos aproximadamente 10 % del número total de células expresan LAG-3. En determinadas modalidades, un tumor positivo para LAG-3 o un tumor positivo para la expresión de LAG-3 significa que al menos aproximadamente 0.1 % a por lo menos aproximadamente 10 % del número total de células inflamatorias que infiltran el tumor (por ejemplo, células T, células T CD8+, células T CD4+, células FOXP3+) expresan LAG-3. En determinadas modalidades, un tumor positivo para LAG-3 o un tumor positivo para la expresión de LAG-3 significa que al menos aproximadamente 0.1 % a por lo menos aproximadamente 10 % del número total de células expresan LAG-3 por % de área tumoral. En algunas modalidades, un tumor positivo para LAG-3 o expresión positiva para LAG-3 significa que al menos aproximadamente 1 % del número total de células expresa LAG-3 en la superficie celular. En algunas modalidades, un tumor positivo para LAG-3 o expresión positiva para LAG-3 significa que al menos aproximadamente 1 % del número total de células inflamatorias que infiltran el tumor (por ejemplo, células T, células T CD8+, células T CD4+, células FOXP3+) expresan LAG-3 en la superficie celular. En algunas modalidades, un tumor positivo para LAG-3 o positivo para expresión de LAG-3 significa que al menos aproximadamente 1 % del número total de células expresa LAG-3 por % de área tumoral. En otras modalidades, un tumor positivo para LAG-3 o expresión positiva para LAG-3 significa que al menos aproximadamente 5 % del número total de células expresa LAG-3 en la superficie celular. En otras modalidades, un tumor positivo para LAG-3 o expresión positiva para LAG-3 significa que al menos aproximadamente 5 % del número total de células inflamatorias que infiltran el tumor (por ejemplo, células T, células T CD8+, células T CD4+, células FOXP3+) expresan LAG-3 en la superficie celular. En algunas modalidades, un tumor positivo para LAG-3 o expresión positiva para LAG-3 significa que al menos aproximadamente 5 % del número total de células expresa LAG-3 por % de área tumoral. En una modalidad particular, tumor positivo para LAG-3 o expresión positiva para expresión de LAG-3 significa que al menos aproximadamente 1 %, o en el intervalo de 1 a 5 % del número total de células, expresan LAG-3 en la superficie celular. En una modalidad particular, tumor positivo para LAG-3 o expresión positiva para LAG-3 significa que al menos aproximadamente 1 %, o en el intervalo de 1 a 5 % del número total de células inflamatorias que infiltran el tumor (por ejemplo, células T, CD8+, células T CD4+, células FOXP3+) expresan LAG-3 en la superficie celular.

"LAG-3 negativo" o "expresión de LAG-3 negativa" se refiere a la proporción de células en una muestra de tejido de prueba que comprende células tumorales y células inflamatorias que infiltran el tumor que no son positivas para LAG-3 o expresión de LAG-3 positivo.

El término "PD-L1 positivo" o "PD-L1 expresión positiva", relacionado con la expresión de PD-L1 en la superficie celular, se refiere a la proporción de células en una muestra de tejido de prueba que comprende células tumorales y células inflamatorias infiltrantes de tumores anteriores cuya muestra se puntúa como que expresa PD-L1 en la superficie celular. Para la expresión de la superficie celular ensayada por inmunohistoquímica (IHC), por ejemplo, con el mAb 28-8, el tumor positivo para PD-L1 o el tumor positivo para la expresión de PD-L1 significa que al menos aproximadamente 0.01 %, al menos aproximadamente 0.05 %, al menos aproximadamente 0.1 %, al menos aproximadamente 0.5 %, al menos aproximadamente 1 %, al menos aproximadamente 2 %, al menos aproximadamente 3 %, al menos aproximadamente 4 %, al menos aproximadamente 5 %, al menos aproximadamente 6 %, al menos aproximadamente 7 %, al menos aproximadamente 8 %, al menos aproximadamente 9 %, al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 15 %, al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 25 %, o al menos aproximadamente 30 % del número total de células expresan PD-L1. El tumor positivo para PD-L1 o el tumor positivo para la expresión de PD-L1 también se pueden expresar en el presente documento como tumor que expresa PD-L1. En otras modalidades, el tumor positivo para PD-L1 o el tumor positivo para la expresión de PD-L1 significa que al menos aproximadamente 0.1 % a por lo menos aproximadamente 20 % del número total de células expresan PD-L1. En determinadas modalidades, el tumor

positivo para PD-L1 o el tumor positivo para la expresión de PD-L1 significa que al menos aproximadamente 0.1 % a por lo menos aproximadamente 10 % del número total de células expresan PD-L1. En algunas modalidades, el tumor positivo para PD-L1 o expresión de PD-L1 positivo significa que al menos aproximadamente 1 % del número total de células expresa PD-L1 en la superficie celular. En otras modalidades, el tumor positivo para PD-L1 o expresión de PD-L1 positivo significa que al menos aproximadamente 5 % del número total de células expresan PD-L1 en la superficie celular. En una modalidad particular, tumor positivo para PD-L1 o expresión positiva para PD-L1 significa que al menos alrededor del 1 %, o al menos alrededor del 1 al 5 % del número total de células expresan PD-L1 en la superficie celular.

Una "respuesta inmune" se refiere a la acción de una célula del sistema inmune (por ejemplo, linfocitos T, linfocitos B, células asesinas naturales (NK), macrófagos, eosinófilos, mastocitos, células dendríticas y neutrófilos) y macromoléculas solubles producidas por cualquiera de estas células o el hígado (incluidos los anticuerpos, las citocinas y el complemento) que dan como resultado la focalización selectiva, la unión, el daño, la destrucción y/o la eliminación del cuerpo de un vertebrado de patógenos invasores, células o tejidos infectados con patógenos, células cancerosas u otras células anormales o, en casos de autoinmunidad o inflamación patológica, células o tejidos humanos normales.

Una "célula inflamatoria infiltrante de tumor" o "célula inflamatoria asociada a tumor" es cualquier tipo de célula que típicamente participa en una respuesta inflamatoria en un sujeto y que infiltra tejido tumoral. Tales células incluyen linfocitos infiltrantes de tumores (TILs), macrófagos, monocitos, eosinófilos, histiocitos y células dendríticas.

El uso de la alternativa (por ejemplo, "o") debe entenderse que significa una, ambas o cualquier combinación de las alternativas. Como se usa en este documento, los artículos indefinidos "un" o "una" deben entenderse que se refieren a "uno o más" de cualquier componente enumerado o enumerado.

El término "y/o" cuando se usa en este documento debe tomarse como descripción específica de cada una de las dos características o componentes especificados con o sin el otro. Por lo tanto, el término "y/o" como se usa en una frase como "A y/o B" en este documento pretende incluir "A y B", "A o B", "A" (solo) y "B" (solo). Asimismo, el término "y/o" como se usa en una frase como "A, B y/o C" pretende abarcar cada uno de los siguientes aspectos: A, B y C; A, B o C; A o C; A o B; B o C; A y C; A y B; B y C; A (solo); B (solo); y C (solo).

Se entiende que siempre que se describen aquí aspectos con el lenguaje "que comprende", también se proporcionan aspectos análogos descritos en términos de "que consiste en" y/o "que consiste esencialmente en".

Los términos "aproximadamente" o "que comprende esencialmente" se refieren a un valor o composición que está dentro de un intervalo de error aceptable para el valor o composición particular de acuerdo con lo determine un experto en la técnica, que dependerá en parte de cómo se mide o determina el valor o la composición, es decir, las limitaciones del sistema de medición. Por ejemplo, "aproximadamente" o "que comprende esencialmente de" puede significar dentro de 1 o más de 1 desviación estándar de acuerdo con la práctica en la técnica. Como alternativa, "aproximadamente" o "que comprende esencialmente de" puede significar un intervalo de hasta 10 % o 20 % (es decir,  $\pm 10\%$  o  $\pm 20\%$ ). Por ejemplo, aproximadamente 3 mg pueden incluir cualquier número entre 2.7 mg y 3.3 mg (para 10 %) o entre 2.4 mg y 3.6 mg (para 20 %). Además, particularmente con respecto a los sistemas o procesos biológicos, los términos pueden significar hasta un orden de magnitud o hasta 5 veces un valor. Cuando se proporcionan valores o composiciones particulares en la solicitud y las reivindicaciones, a menos que se indique lo contrario, se debe suponer que el significado de "aproximadamente" o "que comprende esencialmente de" está dentro de un intervalo de error aceptable para ese valor o composición particular.

Como se describe en este documento, cualquier intervalo de concentración, intervalo de porcentaje, intervalo de razón o intervalo de números enteros debe entenderse que incluye el valor de cualquier número entero dentro del intervalo mencionado y, cuando sea apropiado, fracciones del mismo (tales como una décima y una centésima de un número entero), a menos que se indique lo contrario.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en este documento tienen el mismo significado que el comúnmente entendido por un experto en la técnica a la que se refiere esta descripción. Por ejemplo, el Diccionario Conciso de Biomedicina y Biología Molecular, Juo, Pei-Show, 2ª ed., 2002, CRC Press; El Diccionario de Biología Celular y Molecular, 5ª ed., 2013, Academic Press; y el Diccionario Oxford de Bioquímica y Biología Molecular, 2006, Oxford University Press, proporcionan a los expertos un diccionario general de muchos de los términos usados en esta descripción.

Las unidades, prefijos y símbolos se indican en su forma aceptada por el Sistema Internacional de Unidades (SI). Los intervalos numéricos incluyen los números que definen el intervalo. Los encabezados proporcionados en este documento no son limitaciones de los diversos aspectos de la invención, que se pueden tener por referencia a la descripción en su conjunto. Por consiguiente, los términos definidos inmediatamente a continuación se definen más completamente por referencia a la descripción en su totalidad.

Varios aspectos de la invención se describen con más detalle en las siguientes subsecciones.

## 2. Métodos de la invención

5 Las referencias a métodos de tratamiento, métodos para seleccionar un melanoma metastásico o irresecable en un paciente humano para inmunoterapia, métodos para extender un período de supervivencia libre de progresión, métodos para reducir el tamaño de un tumor, métodos para prevenir una recaída y/o inducir una remisión en un paciente, y los métodos para aumentar la tasa de respuesta objetiva deben entenderse como referencias a compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos para su uso en esos métodos.

10 La presente invención se dirige a un método para tratar melanoma metastásico o irresecable en un sujeto que lo necesita. Una terapia combinada de un inhibidor de LAG-3 (por ejemplo, anticuerpo anti-LAG-3) y un inhibidor de la vía PD-1 (por ejemplo, anticuerpo anti-PD-1) produce mejores resultados terapéuticos (por ejemplo, tasa de respuesta objetiva y control de la enfermedad tasa) para pacientes afectados.

15 En el presente documento se divulga un método para seleccionar un melanoma metastásico o irresecable en un paciente humano para inmunoterapia, que comprende determinar el nivel de expresión de LAG-3 y/o PD-L1 en una muestra de tumor.

20 La invención incluye un método para tratar un melanoma metastásico o irresecable en un paciente humano, que comprende: administrar al paciente una inmunoterapia que comprende un inhibidor de LAG-3 (un anticuerpo anti-LAG-3) y un PD -1 inhibidor de la vía (un anticuerpo anti-PD-1), como se define en las reivindicaciones.

25 En una modalidad, el método para tratar melanoma metastásico o irresecable en un paciente humano que lo necesite comprende: (a) determinar el nivel de expresión de LAG-3 o el nivel de LAG-3 y PD-L1 expresión en una muestra de tumor; y (b) administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de LAG-3 y un inhibidor de la vía de PD-1.

30 En una modalidad, el método para tratar melanoma metastásico o irresecable en un paciente humano que lo necesite comprende: (a) determinar el nivel de expresión de LAG-3 o el nivel de LAG-3 y PD-L1 expresión en una muestra de tumor; (b) determinar la presencia de células tumorales que expresan la mutación BRAF V600; y (c) administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de LAG-3 y un inhibidor de la vía de PD-1.

35 En ciertas modalidades, la invención incluye un método para extender un período de supervivencia libre de progresión en más de 12 meses en un paciente humano que padece un melanoma metastásico o irresecable que comprende administrar al paciente una inmunoterapia como se define en las reivindicaciones, en donde el paciente demuestra supervivencia libre de progresión durante más de 12 meses. En algunas modalidades, la supervivencia libre de progresión del paciente se puede extender, después de la administración, durante aproximadamente 13 meses, aproximadamente 14 meses, aproximadamente 15 meses, aproximadamente 16 meses, aproximadamente 17 meses, aproximadamente 18 meses, aproximadamente 2 años, aproximadamente 3 años, aproximadamente 4 años, aproximadamente 5 años, aproximadamente 6 años, aproximadamente 7 años, aproximadamente 8 años, aproximadamente 9 años o aproximadamente 10 años en comparación con la terapia estándar de atención.

45 En otras modalidades más, la invención incluye un método para reducir el tamaño de un tumor al menos en un 10 % en un paciente humano afectado de melanoma metastásico o irresecable que comprende administrar al paciente una inmunoterapia como se define en las reivindicaciones, en donde la administración reduce el tamaño del tumor al menos alrededor del 10 %, alrededor del 20 %, alrededor del 30 %, alrededor del 40 %, alrededor del 50 %, alrededor del 60 %, alrededor del 70 %, alrededor del 80 %, alrededor del 90 % o 100 % en comparación con el tamaño del tumor antes de la administración.

50 En algunas modalidades, el método comprende identificar que el paciente tenga linfocitos o células tumorales infiltrantes de tumores que expresan o contienen un marcador particular. Por ejemplo, en algunas modalidades, el melanoma es positivo para LAG-3. En algunas modalidades, el melanoma es positivo para PD-L1. En algunas modalidades, el melanoma es positivo para PD-L1 positivo para LAG-3. En algunas modalidades, el melanoma contiene una mutación BRAF V600. En algunas modalidades, el melanoma es LAG-3 positivo y expresa la mutación BRAF V600. En algunas modalidades, el melanoma es LAG-3 positivo y contiene células tumorales que expresan BRAF tipo salvaje. En algunas modalidades, el melanoma es positivo para LAG-3, positivo para PD-L1 y contiene BRAF tipo salvaje. En algunas modalidades, el melanoma es positivo para LAG-3, positivo para PD-L1 y contiene una mutación BRAF V600. En algunas modalidades, el melanoma es positivo para PD-L1 y contiene un BRAF tipo salvaje. En algunas modalidades, el melanoma es positivo para PD-L1 y contiene una mutación BRAF V600.

La invención también puede incluir un método para prevenir una recaída y/o inducir una remisión en un paciente que comprende administrar al paciente una inmunoterapia como se define en las reivindicaciones.

65 En determinadas modalidades, la invención incluye un método para aumentar una tasa de respuesta objetiva superior al 55 % en una población de pacientes, en donde cada paciente de la población de pacientes padece

melanoma metastásico o irresecable, en un tratamiento contra el cáncer que comprende administrar para el paciente una inmunoterapia como se define en las reivindicaciones, en donde se identifica que cada paciente tiene un melanoma metastásico o irresecable y en donde la tasa de respuesta objetiva es superior a aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 % o aproximadamente 75 % o más. En algunas modalidades, el método comprende identificar que el paciente tiene un tumor positivo para LAG-3, PD-L1 positivo antes de la administración. En algunas modalidades, el tumor expresa la mutación BRAF V600.

En ciertas modalidades, la invención incluye un método para aumentar la tasa de control de la enfermedad por encima del 55 % en una población de pacientes, en donde cada paciente de la población de pacientes padece melanoma metastásico o irresecable, en un tratamiento contra el cáncer que comprende administrar al paciente una inmunoterapia como se define en las reivindicaciones, en donde se identifica que cada paciente tiene un melanoma metastásico o irresecable y en donde la tasa de control de la enfermedad es superior a aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 % o aproximadamente 75 % o más. En algunas modalidades, el método comprende identificar que el paciente tiene un tumor positivo para PD-L1 positivo para LAG-3 antes de la administración. En algunas modalidades, el tumor contiene la mutación BRAF V600.

En otras modalidades, cada paciente en los métodos experimenta (i) una supervivencia libre de progresión prolongada durante más de 12 meses, (ii) una reducción del tamaño del tumor de al menos aproximadamente 10 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 40 %, o aproximadamente 50 % o más en comparación con el tamaño del tumor antes de la administración, o (iii) ambos.

Los métodos de la invención, tal como resultado de la administración de la inmunoterapia, pueden tratar el tumor de melanoma metastásico o irresecable, reducir el tamaño del tumor, inhibir el crecimiento del tumor, eliminar el tumor del paciente, prevenir una recaída de un tumor, inducir una remisión en un paciente o cualquier combinación de los mismos. En determinadas modalidades, la administración de una inmunoterapia descrita en el presente documento induce una respuesta completa. En otras modalidades, la administración de la inmunoterapia induce una respuesta parcial.

En algunas modalidades, el tumor positivo para LAG-3 y/o PD-L1 comprende al menos aproximadamente 1 %, al menos aproximadamente 2 %, al menos aproximadamente 3 %, al menos aproximadamente 4 %, al menos aproximadamente 5 %, al menos alrededor del 7 %, al menos alrededor del 10 %, al menos alrededor del 15 %, al menos alrededor del 20 %, al menos alrededor del 25 %, al menos alrededor del 30 %, al menos alrededor del 40 %, al menos alrededor del 50 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 % o 100 % de células que expresan LAG-3. En algunas modalidades, las células que expresan LAG-3 son linfocitos que se infiltran en el tumor. En algunas modalidades, las células que expresan PD-L1 son células tumorales.

En algunas modalidades, la expresión de LAG-3 y/o PD-L1 se determina recibiendo los resultados de un ensayo capaz de determinar la expresión de LAG-3 y/o PD-L1.

Un método para determinar la expresión de PD-L1 en una muestra de tumor, métodos para identificar que el paciente tiene un tumor maligno positivo para PD-L1 y métodos para determinar la expresión de PD-L1 en un tumor maligno se han descrito en el documento WO2016/176504.

Para evaluar la expresión de LAG-3 y PD-L1, y/o si el cáncer contiene una mutación BRAF V600 en una modalidad, se obtiene una muestra de tejido de prueba del paciente que necesita la terapia. En algunas modalidades, una muestra de tejido de prueba incluye, pero no se limita a, cualquier muestra de tejido clínicamente relevante, tal como una biopsia de tumor, una muestra de tejido de biopsia central, un aspirado con aguja fina o una muestra de fluido corporal, tal como sangre, plasma, suero, linfa, líquido ascítico, líquido quístico u orina. En algunas modalidades, la muestra de tejido de prueba procede de un tumor primario. En algunas modalidades, la muestra de tejido de prueba procede de una metástasis. En algunas modalidades, se toman muestras de tejido de prueba de un sujeto en varios puntos de tiempo, por ejemplo, antes del tratamiento, durante el tratamiento y/o después del tratamiento. En algunas modalidades, se toman muestras de tejido de prueba de diferentes lugares en el sujeto, por ejemplo, una muestra de un tumor primario y una muestra de una metástasis en un lugar distante.

En algunas modalidades, la muestra de tejido de prueba es una muestra de tejido embebida en parafina. En algunas modalidades, la muestra de tejido de prueba es una muestra de tejido embebida en parafina fijada con formalina (FFPE). En algunas modalidades, la muestra de tejido de prueba es una muestra de tejido reciente (por ejemplo, un tumor). En algunas modalidades, la muestra de tejido de prueba es una muestra de tejido congelada. En algunas modalidades, la muestra de tejido de prueba es una muestra de tejido (por ejemplo, tumor) recién congelada (FF). En algunas modalidades, la muestra de tejido de prueba es una célula aislada de un fluido. En algunas modalidades, la muestra de tejido de prueba comprende células tumorales circulantes (CTCs). En algunas modalidades, la muestra de tejido de prueba comprende linfocitos infiltrantes de tumores (TILs). En algunas modalidades, la muestra de tejido de prueba comprende células tumorales y linfocitos infiltrantes de tumores (TILs). En algunas modalidades, la muestra de tejido de prueba comprende linfocitos circulantes. En algunas modalidades, la muestra de tejido de prueba es una muestra de tejido de archivo. En algunas modalidades, la muestra de tejido de prueba es una

muestra de tejido de archivo con diagnóstico, tratamiento y/o historial de resultados conocidos. En algunas modalidades, la muestra es un bloque de tejido. En algunas modalidades, la muestra de tejido de prueba son células dispersas. En algunas modalidades, el tamaño de la muestra es de aproximadamente 1 célula a aproximadamente  $1 \times 10^6$  células o más. En algunas modalidades, el tamaño de la muestra es de aproximadamente 1 célula a aproximadamente  $1 \times 10^5$  células. En algunas modalidades, el tamaño de la muestra es de aproximadamente 1 célula a aproximadamente 10,000 células. En algunas modalidades, el tamaño de la muestra es de aproximadamente 1 célula a aproximadamente 1,000 células. En algunas modalidades, el tamaño de la muestra es de aproximadamente 1 célula a aproximadamente 100 células. En algunas modalidades, el tamaño de la muestra es de aproximadamente 1 célula a aproximadamente 10 células. En algunas modalidades, el tamaño de la muestra es una sola célula.

En otra modalidad, la evaluación del estado de LAG-3, PD-L1 y/o BRAF V600 se puede lograr sin obtener una muestra de tejido de prueba. En algunas modalidades, seleccionar un paciente adecuado incluye (i) proporcionar opcionalmente una muestra de tejido de prueba obtenida de un paciente con cáncer de tejido, comprendiendo la muestra de tejido de prueba células tumorales y/o células inflamatorias que infiltran el tumor; y (ii) evaluar la proporción de células en la muestra de tejido de prueba que expresan LAG-3, PD-L1 y/o BRAF V600 basándose en una evaluación de que la proporción de células en la muestra de tejido de prueba es superior a un nivel umbral predeterminado.

Sin embargo, en cualquiera de los métodos que comprenden la medición del estado de LAG-3, PD-L1 y/o BRAF V600 en una muestra de tejido de prueba, debe entenderse que el paso que comprende la provisión de una muestra de tejido de prueba obtenida de un paciente es un paso opcional. Es decir, en determinadas modalidades, el método incluye este paso, y en otras modalidades, este paso no está incluido en el método. También debe entenderse que en ciertas modalidades el paso de "medición" o "evaluación" para identificar o determinar el número o la proporción de células en la muestra de tejido de prueba que expresan LAG-3 y/o PD-L1 se lleva a cabo mediante un método transformativo de ensayo de LAG-3 y/o PD-L1, por ejemplo llevando a cabo un ensayo de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) o un ensayo IHC. En algunas otras modalidades, no está involucrada ninguna etapa de transformación y la expresión de LAG-3 y/o PD-L1 se evalúa, por ejemplo, revisando un informe de resultados de prueba de un laboratorio. En algunas modalidades, la expresión de LAG-3 y/o PD-L1 se evalúa revisando los resultados de un ensayo de inmunohistoquímica de un laboratorio. En ciertas modalidades, los pasos de los métodos hasta, e incluyendo, la evaluación de la expresión de LAG-3 y/o PD-L1 proporcionan un resultado intermedio que se puede proporcionar a un médico u otro proveedor de atención médica para su uso en la selección de un candidato adecuado para la terapia de combinación de un inhibidor de LAG-3 y un inhibidor de la vía de PD-1. En determinadas modalidades, las etapas que proporcionan el resultado intermedio las lleva a cabo un médico o alguien que actúa bajo la dirección de un médico. En otras modalidades, estos pasos los lleva a cabo un laboratorio independiente o una persona independiente, tal como un técnico de laboratorio. En algunas modalidades, la presencia de una mutación BRAF V600 se lleva a cabo usando enfoques paralelos para LAG-3 y/o PD-L1.

En ciertas modalidades de cualquiera de los presentes métodos, la proporción de células que expresan LAG-3 y PD-L1, y/o contienen una mutación BRAF V600 se evalúa llevando a cabo un ensayo para detectar la presencia de LAG-3, PD-L1 y/o ARN BRAF. En modalidades adicionales, la presencia de ARN de LAG-3, PD-L1 y/o BRAF se detecta mediante RT-PCR, hibridación *in situ* o protección con ARNasa. En algunas modalidades, la presencia de ARN de LAG-3, PD-L1 y/o BRAF se detecta mediante un ensayo a base de RT-PCR. En algunas modalidades, puntuar el ensayo a base de RT-PCR comprende evaluar el nivel de expresión de ARN de LAG-3, PD-L1 y/o BRAF en la muestra de tejido de prueba en relación con un nivel predeterminado. En algunas modalidades, la expresión de uno o más de LAG-3, PD-L1 y BRAF V600 se evalúa usando perfilado de expresión génica.

En otras modalidades, la proporción de células que expresan LAG-3 y PD-L1, y/o contienen una mutación BRAF V600 se evalúa llevando a cabo un ensayo para detectar la presencia de LAG-3 y PD-L1, y/o contener un polipéptido de mutación BRAF V600. En modalidades adicionales, la presencia de polipéptido LAG-3, PD-L1 y/o BRAF V600 se detecta mediante IHC, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), imagenología *in vivo* o citometría de flujo. En algunas modalidades, la expresión de LAG-3, PD-L1 y el estado de BRAF V600 se analizan mediante IHC. En otras modalidades de todos estos métodos, la expresión en la superficie celular de LAG-3 y PD-L1 y/o la presencia de una mutación de BRAF V600 se ensaya usando, por ejemplo, IHC o imagenología *in vivo*.

En otras modalidades, la proporción de células que expresan LAG-3 y PD-L1 y/o contienen una mutación BRAF V600 en la muestra de tejido de prueba se evalúa mediante citometría de flujo. En algunas modalidades, la muestra de tejido de prueba analizada por citometría de flujo comprende células inmunes que se infiltran en el tumor. En algunas modalidades, el tumor maligno es una neoplasia maligna hematológica y la muestra de tejido analizada por citometría de flujo comprende células de sangre periférica. En algunas modalidades, la citometría de flujo es un ensayo multiplex. En algunas modalidades, puntuar la citometría de flujo comprende detectar la expresión de marcadores que comprenden LAG-3, CD4, CD8, FOXP3 y cualquier combinación de los mismos. En algunas modalidades, puntuar la citometría de flujo comprende evaluar la proporción de células T en la muestra de tejido de prueba que expresan LAG-3 y PD-L1, y/o contienen una mutación BRAF V600. En algunas modalidades, puntuar la citometría de flujo comprende evaluar la proporción de células T CD8+ en la muestra de tejido de prueba que expresan LAG-3 y PD-L1, y/o contienen una mutación BRAF V600. En algunas modalidades, puntuar la citometría

de flujo comprende evaluar la proporción de células T CD4+ en la muestra de tejido de prueba que expresan LAG-3 y PD-L1, y/o contienen una mutación BRAF V600. En algunas modalidades, puntuar la citometría de flujo comprende evaluar la proporción de células T FOXP3+ en la muestra de tejido de prueba que expresan LAG-3 y PD-L1, y/o contienen una mutación BRAF V600.

5 En determinadas modalidades de cualquiera de los presentes métodos, la proporción de células que expresan LAG-3, PD-L1 y/o contienen un BRAF V600 en la muestra de tejido de prueba se evalúa llevando a cabo un ensayo para detectar la presencia de polipéptido LAG-3. En algunas modalidades, la presencia de polipéptido LAG-3, PD-L1 y/o BRAF V600 se detecta mediante un ensayo inmunohistoquímico. En algunas modalidades, la muestra de tejido de prueba es una biopsia de tumor. En algunas modalidades, la muestra de tejido de prueba es una muestra embebida en parafina fijada con formalina (FFPE).

10 En algunas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica es un ensayo monoplex. En algunas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica es un ensayo multiplex. En algunas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica multiplex es capaz de detectar la presencia de CD4, CD8, FOXP3 o cualquier combinación de los mismos.

15 En algunas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica comprende poner en contacto la muestra de tumor con el anticuerpo monoclonal IgG1 anti-LAG-3 humano de ratón 17B4. En algunas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica comprende poner en contacto la muestra de tumor con un anticuerpo anti-LAG-3 que comprende regiones variables de cadena pesada y ligera que comprenden las secuencias expuestas en SEQ ID NO: 3 y 5, respectivamente. En algunas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica comprende poner en contacto la muestra de tumor con el anticuerpo monoclonal IgG anti-LAG-3 humano de conejo SP346. En algunas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica comprende poner en contacto la muestra de tumor con el anticuerpo monoclonal antihumano LAG-3 11E3 (Novusbio), 874501 (Novusbio) o EPR4392 (2) (Abcam). En algunas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica comprende poner en contacto la muestra de tumor con reactivos en el kit Dako PD-L1 IHC 28-8 para ensayar la expresión de PD-L1.

20 En algunas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica se puntúa con un aumento bajo. En algunas modalidades, el aumento bajo es de aproximadamente 20X. En algunas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica se puntúa con gran aumento. En algunas modalidades, el aumento elevado es de aproximadamente 40X.

25 En algunas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica se puntúa mediante un software de análisis de imágenes. En algunas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica se puntúa mediante la puntuación inmune visual del patólogo. En algunas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica se puntúa manualmente.

30 En algunas modalidades, puntuar el ensayo de inmunohistoquímica comprende evaluar la proporción de células en la muestra de tejido de prueba que expresan LAG-3 y PD-L1, y/o contienen una mutación BRAF V600. En algunas modalidades, puntuar el ensayo de inmunohistoquímica comprende evaluar la proporción de células inmunes en la muestra de tejido de prueba que expresan LAG-3 y PD-L1, y/o contienen una mutación BRAF V600. En algunas modalidades, puntuar el ensayo de inmunohistoquímica comprende evaluar la proporción de células T en la muestra de tejido de prueba que expresan LAG-3 y PD-L1, y/o contienen una mutación BRAF V600. En algunas modalidades, puntuar el ensayo de inmunohistoquímica comprende evaluar la proporción de células T CD8+ en la muestra de tejido de prueba que expresan LAG-3. En algunas modalidades, puntuar el ensayo de inmunohistoquímica comprende evaluar la proporción de células T CD4+ en la muestra de tejido de prueba que expresan LAG-3. En algunas modalidades, puntuar el ensayo de inmunohistoquímica comprende evaluar la proporción de células T FOXP3+ en la muestra de tejido de prueba que expresan LAG-3.

35 En algunas modalidades, el ensayo de inmunohistoquímica es un ensayo multiplex que comprende además detectar la expresión de MHC de clase II por las células tumorales. En algunas modalidades, puntuar el ensayo de inmunohistoquímica comprende evaluar la proporción de células en la muestra de tejido de prueba que expresa MHC Clase II. En algunas modalidades, puntuar el ensayo de inmunohistoquímica comprende evaluar la proporción de células no inmunes en la muestra de tejido de prueba que expresa MHC Clase II.

40 En modalidades particulares, se mide la expresión de la proteína 1 similar al fibrinógeno (FGL1) por las células tumorales.

45 Las técnicas de imagenología han proporcionado herramientas importantes en la investigación y el tratamiento del cáncer. Desarrollos recientes en sistemas de imagenología molecular, incluyendo tomografía por emisión de positrones (PET), tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT), imagenología de reflectancia de fluorescencia (FRI), tomografía mediada por fluorescencia (FMT), imagenología por bioluminiscencia (BLI), microscopía de escaneo láser confocal (LSCM) y microscopía multifotónica (MPM) probablemente presagiarán un uso aún mayor de estas técnicas en la investigación del cáncer. Algunos de estos sistemas de imagenología molecular permiten a los médicos no solo ver dónde se encuentra un tumor en el cuerpo, sino también visualizar la expresión y actividad de moléculas, células y procesos biológicos específicos que influyen en el comportamiento del tumor y/o la capacidad de respuesta a fármacos terapéuticos (Condeelis y Weissleder, *Cold Spring Harb. Perspect.*

*Biol.* 2 (12): a003848 (2010)). La especificidad del anticuerpo, junto con la sensibilidad y resolución de la PET, hace que la imagenología de inmunoPET sea particularmente atractiva para monitorear y analizar la expresión de antígenos en muestras de tejido (McCabe y Wu, *Cancer Biother. Radiopharm.* 25 (3): 253-61 (2010); Olafsen *et al.*, *Protein Eng. Des. Sel.* 23 (4): 243-9 (2010)). En determinadas modalidades de cualquiera de los presentes métodos, la expresión de LAG-3, PD-L1 y/o BRAF V600 se analiza mediante imagenología de inmunoPET. En determinadas modalidades de cualquiera de los presentes métodos, la proporción de células en una muestra de tejido de prueba que expresan LAG-3, PD-L1 y/o BRAF V600 se evalúa llevando a cabo un ensayo para determinar la presencia de LAG-3, polipéptido PD-L1 y/o BRAF V600 en la superficie de las células en la muestra de tejido de prueba. En determinadas modalidades, la muestra de tejido de prueba es una muestra de tejido FFPE. En otras modalidades, la presencia de polipéptido LAG-3, PD-L1 y/o BRAF V600 se determina mediante un ensayo IHC. En modalidades adicionales, el ensayo IHC se lleva a cabo usando un proceso automatizado.

### 3. Ensayo de la expresión de LAG-3 y PD-L1 y/o la presencia de una mutación de BRAF V600 mediante IHC automatizada

En una modalidad de los presentes métodos, se usa un método IHC automatizado para analizar la expresión de LAG-3 y PD-L1, y/o la presencia de una mutación BRAF V600 en muestras de tejido FFPE. Esta invención proporciona métodos para detectar la presencia de LAG-3, PD-L1 y/o BRAF V600 humanos en una muestra de tejido de prueba, o cuantificar el nivel de antígeno LAG-3, PD-L1 y/o BRAF V600 humanos o la proporción de células en la muestra que expresan el antígeno, qué métodos comprenden poner en contacto la muestra de prueba y una muestra de control negativo, con un mAb que se une específicamente a LAG-3, PD-L1 y/o BRAF V600 humanos, en condiciones que permitan formación de un complejo entre el anticuerpo o parte del mismo y LAG-3, PD-L1 y/o BRAF V600 humanos. En determinadas modalidades, las muestras de tejido de prueba y de control son muestras de FFPE. A continuación, se detecta la formación de un complejo, en donde una diferencia en la formación del complejo entre la muestra de prueba y la muestra de control negativo es indicativa de la presencia de antígeno humano LAG-3, PD-L1 y/o BRAF V600 en la muestra. Se usan varios métodos para cuantificar LAG-3, PD-L1 y/o BRAF V600.

En una modalidad particular, el método IHC automatizado comprende: (a) desparafinar y rehidratar secciones de tejido montadas en un aparato de tinción automático; (b) recuperar el antígeno en un tinción automática; (c) preparar reactivos en un aparato de tinción automático; y (d) ejecutar el aparato de tinción automático para incluir las etapas de neutralizar la peroxidasa endógena en la muestra de tejido; bloquear sitios de unión a proteínas no específicos en los portaobjetos; incubar los portaobjetos con Ab primario; incubar con un agente bloqueante posprimario; incubar con un agente de detección de anticuerpos posprimario, tal como otro anticuerpo que puede o no estar conjugado con una enzima de detección; incubar con un reactivo de detección de enzima polimérica; añadiendo un sustrato cromógeno y revelando; y contratinción con hematoxilina. En algunas modalidades, la recuperación de antígeno comprende el uso de cualquier dispositivo de recuperación de antígeno a base de calor.

En algunas modalidades, para evaluar la presencia de LAG-3, PD-L1 y/o BRAF V600 en muestras de tejido tumoral, un patólogo examina el número de linfocitos infiltrantes de tumores LAG-3+, células tumorales PD-L1+ y/o células tumorales BRAF V600+ en cada campo bajo un microscopio y estima mentalmente el porcentaje de células que son positivas, luego las promedia para llegar al porcentaje final. Las diferentes intensidades de tinción se definen como 0/negativo, 1 +/débil, 2 +/-moderado y 3 +/fuerte. Normalmente, los valores porcentuales se asignan primero a los segmentos 0 y 3+, y luego se consideran las intensidades intermedias 1+ y 2+. Para tejidos muy heterogéneos, la muestra se divide en zonas, y cada zona se puntúa por separado y luego se combina en un solo conjunto de valores porcentuales. Los porcentajes de células negativas y positivas para las diferentes intensidades de tinción se determinan en cada área y se da un valor medio a cada zona. Se da un valor porcentual final al tejido para cada categoría de intensidad de tinción: negativo, 1+, 2+ y 3+. La suma de todas las intensidades de tinción debe ser del 100 %.

En algunas modalidades, la tinción también se evalúa en células inflamatorias que infiltran el tumor, tales como macrófagos y linfocitos. Los macrófagos y linfocitos se evalúan para la tinción LAG-3, PD-L1 y/o BRAF V600 y solo se registran para todas las muestras como positivas o negativas para cada categoría celular. La tinción también se caracteriza de acuerdo con una designación de célula inmunitaria tumoral externa/interna. "Adentro" significa que la célula inmunitaria está dentro del tejido tumoral y/o en los límites de la región tumoral sin estar físicamente intercalada entre las células tumorales. "Afuera" significa que no hay asociación física con el tumor, encontrándose las células inmunes en la periferia asociadas con el tejido conjuntivo o cualquier tejido adyacente asociado.

En determinadas modalidades de estos métodos de puntuación, las muestras son puntuadas por dos o más patólogos que operan de forma independiente, y las puntuaciones se consolidan posteriormente. En algunas otras modalidades, la identificación de células positivas y negativas se puntúa usando software apropiado.

Se usa una histoscore (puntuación H) como una medida más cuantitativa de los datos de IHC. La histoscore se calcula de la siguiente manera:

Histoscore = [(% tumor x 1 (baja intensidad)) + (% tumor x 2 (intensidad media)) + (% de tumor x 3 (alta intensidad))]

Para determinar la histoscore, el patólogo estima el porcentaje de células teñidas en cada categoría de intensidad dentro de una muestra. Debido a que la expresión de la mayoría de los biomarcadores es heterogénea, la histoscore es una representación más fiel de la expresión general. El intervalo de histoscore final es de 0 (puntuación mínima, sin expresión) a 300 (puntuación máxima, expresión fuerte e inclusiva).

**4. Inhibidores de LAG-3**

La divulgación presenta métodos para usar un inhibidor de LAG-3 en el tratamiento de tumores malignos. Como se usa en el presente documento, el inhibidor de LAG-3 incluye, pero no se limita a, agentes de unión a LAG-3 y polipéptidos LAG-3 solubles. Los agentes de unión a LAG-3 incluyen anticuerpos que se unen específicamente a LAG-3.

Un inhibidor de LAG-3 puede ser un agente de unión a LAG-3, por ejemplo, un anticuerpo anti-LAG-3. Un inhibidor de LAG-3 puede ser un polipéptido LAG-3 soluble, por ejemplo, un polipéptido de fusión LAG-3-Fc capaz de unirse a MHC Clase II.

Los anticuerpos anti-LAG-3 humano (o dominios VH/VL derivados de los mismos) adecuados para su uso pueden generarse usando métodos bien conocidos en la técnica. Como alternativa, pueden usarse anticuerpos anti-LAG-3 reconocidos en la técnica.

En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 es BMS-986016 que comprende cadenas ligeras y pesadas que comprenden las secuencias que se muestran en SEQ ID NO: 1 y 2, respectivamente, o variantes. En algunas modalidades, el anticuerpo BMS-986016 no comprende el aminoácido lisina terminal de la cadena pesada de SEQ ID NO: 1.

El anticuerpo para su uso de acuerdo con la invención tiene las CDRs de cadena pesada y ligera o regiones variables de BMS-986016 (relatlimab). En consecuencia, el anticuerpo comprende dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VH de BMS-986016 que tienen la secuencia establecida en SEQ ID NO: 3, y dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VL de BMS-986016 que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 5. En otra modalidad, el anticuerpo comprende dominios CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias indicadas en SEQ ID NO: 7, 8 y 9, respectivamente, y dominios CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias indicadas en SEQ ID NO: 10, 11 y 12, respectivamente. En otra modalidad, el anticuerpo comprende regiones VH y/o VL que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 3 y/o SEQ ID NO: 5, respectivamente. En otra modalidad, el anticuerpo comprende regiones variables de cadena pesada (VH) y/o variables de cadena ligera (VL) codificadas por las secuencias de ácido nucleico expuestas en SEQ ID NO: 4 y/o SEQ ID NO: 6, respectivamente. El anticuerpo puede competir por unirse y/o se une al mismo epítipo en LAG-3 que los anticuerpos mencionados anteriormente. En una modalidad, el anticuerpo comprende (a) una CDR1 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 7; (b) una CDR2 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 8; (c) una CDR3 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 9; (d) una CDR1 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 10; y (e) una CDR2 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 11.

En otra modalidad, el anticuerpo tiene al menos aproximadamente 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos de región variable con los anticuerpos mencionados anteriormente (por ejemplo, al menos aproximadamente 90 %, 95 % o 99 % de identidad de región variable con SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 5).

En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 compite de forma cruzada con BMS-986016 (relatlimab) por la unión a LAG-3 humano. En otras modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 se une al mismo epítipo que BMS-986016 (relatlimab). En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 es un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado o un anticuerpo monoclonal humano. En otras modalidades, el anti-LAG-3 comprende una región constante de cadena pesada de un isotipo de IgG1 humano o un isotipo de IgG4 humano. En modalidades particulares, el anticuerpo anti-LAG-3 del mismo es BMS-986016 (relatlimab). En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 es un biosimilar. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 es un biosimilar de BMS-986016 (relatlimab).

Los anticuerpos anti-LAG-3 reconocidos en la técnica incluyen, por ejemplo, el anticuerpo anti-LAG-3 humano descrito en el documento US2011/0150892 A1, y denominado anticuerpo monoclonal 25F7 (también conocido como "25F7" y "LAG-3.1). Otros anticuerpos anti-LAG-3 reconocidos en la técnica incluyen IMP731 (H5L7BW) descrito en US 2011/007023, MK-4280 (28G-10) descrito en WO2016028672, aLAG3 (0414) y aLAG3 (0416) descritos en WO2018185046, anti-PDI/LAG3 0927 descrito en WO2018185043, REGN3767 descrito en Journal for Immunotherapy of Cancer, (2016) Vol. 4, Supp. Suplemento 1 Número de resumen: P195, BAP050 descrito en WO2017/019894, IMP-701 (LAG-525), aLAG3(0414), aLAG3(0416), Sym022, TSR-033, TSR-075, XmAb22841, MGD013, B1754111, FS118, P 13B02-30. AVA-017 and GSK2831781. Estos y otros anticuerpos anti-LAG-3 útiles en la invención reivindicada se pueden encontrar en, por ejemplo: WO2016/028672, WO2017/106129, WO2017/062888, WO2009/044273, WO2018/069500, WO2016/126858, WO2014/179664, WO2016/200782,

WO2015/200119, WO2017/019846, WO2017/198741, WO2017/220555, WO2017/220569, WO2018/071500, WO2017/015560, WO2017/025498, WO2017/087589, WO2017/087901, WO2018/083087, WO2017/149143, WO2017/219995, US2017/0260271, WO2017/086367, WO2017/086419, WO2018/034227, WO2018185046, WO2018185043 y WO2014/140180. Un antagonista de LAG-3 puede ser IMP321 (effilagimod alfa). En algunas modalidades de la presente invención, el anticuerpo anti-LAG-3 comprende una mutación de serina a prolina en el residuo de aminoácido 228.

También se pueden usar anticuerpos que compiten con cualquiera de los anticuerpos mencionados anteriormente para unirse a LAG-3.

Puede usarse un anticuerpo anti-LAG-3 para determinar la expresión de LAG-3. Un anticuerpo anti-LAG-3 se puede seleccionar por su capacidad para unirse a LAG-3 en muestras de tejido embebidas en parafina y fijadas con formalina (FFPE). Un anticuerpo anti-LAG-3 es capaz de unirse a LAG-3 en tejidos congelados. Un anticuerpo anti-LAG-3 es capaz de distinguir formas unidas a membrana, citoplasmáticas y/o solubles de LAG-3.

Un anticuerpo anti-LAG-3 útil para ensayar, detectar y/o cuantificar la expresión de LAG-3 de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento es el anticuerpo monoclonal anti-LAG-3 humano IgG1 de ratón 17B4. Véase, por ejemplo, J. Matsuzaki, et al.; PNAS 107, 7875 (2010).

## 5. Inhibidores de la vía de PD-1

Como se usa en el presente documento, "inhibidor de la vía de PD-1" incluye, pero sin limitación, agentes de unión a PD-1, agente de unión a PD-L1 y agentes de unión a PD-L2. Los agentes de unión a PD-1 incluyen anticuerpos que se unen específicamente a PD-1. Los agentes de unión a PD-L1 y PD-L2 incluyen anticuerpos que se unen específicamente a PD-L1 y/o PD-L2, así como polipéptidos PD-1 solubles que se unen a PD-L1 y/o PD-L2.

El inhibidor de la vía de PD-1 para su uso de acuerdo con la invención es un agente de unión a PD-1, específicamente un anticuerpo anti-PD-1. Un agente de unión a PD-L1 puede ser un polipéptido PD-1 soluble, por ejemplo, un polipéptido de fusión PD-1-Fc capaz de unirse a PD-L1. Un agente de unión a PD-L2 puede ser un polipéptido PD-1 soluble, por ejemplo, un polipéptido de fusión PD-1-Fc capaz de unirse a PD-L2.

Los anticuerpos anti-PD-1 humana (o dominios VH y/o VL derivados de los mismos) adecuados para su uso en la invención se pueden generar usando métodos bien conocidos en la técnica. Como alternativa, los anticuerpos anti-PD-1 reconocidos en la técnica incluyen, por ejemplo, los anticuerpos monoclonales 5C4 (denominados aquí Nivolumab o BMS-936558), 17D8, 2D3, 4H1, 4A11, 7D3 y 5F4, descritos en el documento WO 2006/121168. Otros anticuerpos PD-1 conocidos incluyen lambrolizumab (MK-3475) descrito en el documento WO 2008/156712 y AMP-514 descrito en el documento WO 2012/145493. Otros anticuerpos PD-1 conocidos y otros inhibidores de PD-1 incluyen los descritos, por ejemplo, en los documentos WO 2009/014708, WO 03/099196, WO 2009/114335 y WO 2011/161699. Los anticuerpos anti-PD-1 incluyen REGN2810 y pidilizumab (CT-011).

En una modalidad, el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab. Nivolumab (también conocido como "OPDIVO®"; anteriormente denominado 5C4, BMS-936558, MDX-1106 o ONO-4538) es un anticuerpo inhibidor del punto de control inmune IgG4 (S228P) PD-1 completamente humano que previene selectivamente la interacción con ligandos de PD-1 (PD-L1 y PD-L2), bloqueando así la regulación a la baja de las funciones antitumorales de las células T (patente estadounidense No. 8,008,449; Wang *et al.*, *Cancer Immunol Res.* 2(9): 846-56 (2014)). En otra modalidad, el anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento del mismo compite de forma cruzada con nivolumab. En otras modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento del mismo se une al mismo epítipo que nivolumab. El anticuerpo anti-PD-1 tiene las mismas CDRs que nivolumab.

En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 comprende cadenas ligeras y pesadas que comprenden las secuencias mostradas en SEQ ID NO: 17 y 18, respectivamente, o variantes de las mismas. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 comprende (a) una CDR1 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 19; (b) una CDR2 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 20; (c) una CDR3 de la región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 21; (d) una CDR1 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 22; (e) una CDR2 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 23; y (f) una CDR3 de la región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia indicada en SEQ ID NO: 24.

En otras modalidades, el anticuerpo tiene CDR de cadena pesada y ligera o regiones variables de nivolumab. En consecuencia, en una modalidad, el anticuerpo comprende dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la VH de nivolumab que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 15, y dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la VL de nivolumab que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 17. En otra modalidad, el anticuerpo comprende dominios CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias indicadas en SEQ ID NO: 19, 20 y 21, respectivamente, y dominios CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias indicadas en SEQ ID NO: 22, 23 y 24, respectivamente. En otra modalidad, el anticuerpo comprende regiones VH y/o VL que comprenden las secuencias de aminoácidos

expuestas en SEQ ID NO: 15 y/o SEQ ID NO: 17, respectivamente. El anticuerpo puede competir por unirse y/o se une al mismo epítipo en PD-1 que los anticuerpos mencionados anteriormente. En otra modalidad, el anticuerpo tiene al menos aproximadamente 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos de región variable con los anticuerpos mencionados anteriormente (por ejemplo, al menos aproximadamente 90 %, 95 % o 99 % de identidad de región variable con SEQ ID NO: 15 o SEQ ID NO: 17).

En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 compite de forma cruzada con nivolumab por la unión a PD-1 humana. En otras modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 se une al mismo epítipo que nivolumab. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado o un anticuerpo monoclonal humano. En otras modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 comprende una región constante de cadena pesada de un isotipo IgG1 humano o un isotipo IgG4 humano. En modalidades particulares, el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab o pembrolizumab. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es un biosimilar de nivolumab. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es un biosimilar de pembrolizumab.

Los anticuerpos anti-PD-1 que se conocen en la técnica incluyen varios anticuerpos monoclonales humanos que se unen específicamente a PD-1 con alta afinidad. Se ha demostrado que los anticuerpos humanos anti-PD-1 descritos en la patente estadounidense No. 8,008,449 exhiben una o más de las siguientes características: (a) se unen a PD-1 humano con una KD de  $1 \times 10^{-7}$  M o menos, tal como se determina por resonancia de plasmón superficial usando un sistema biosensor Biacore; (b) no se unen sustancialmente a CD28, CTLA-4 o ICOS humanos; (c) aumentan la proliferación de células T en un ensayo de reacción de linfocitos mixtos (MLR); (d) aumentan la producción de interferón- $\gamma$  en un ensayo MLR; (e) aumentan la secreción de IL-2 en un ensayo MLR; (f) se unen a PD-1 humana y PD-1 de mono cynomolgus; (g) inhiben la unión de PD-L1 y/o PD-L2 a PD-1; (h) estimulan respuestas de memoria específicas de antígeno; (i) estimulan las respuestas de anticuerpos; e (j) inhiben el crecimiento de células tumorales *in vivo*. Los anticuerpos anti-PD-1 que pueden usarse en la presente invención incluyen anticuerpos monoclonales que se unen específicamente a PD-1 humano y exhiben al menos una, en algunas modalidades, al menos cinco, de las características precedentes.

Se han descrito otros anticuerpos monoclonales anti-PD-1 en, por ejemplo, las patentes estadounidenses Nos. 6,808,710, 7,488,802, 8,168,757 y 8,354,509, publicación estadounidense No. 2016/0272708, y publicaciones de PCT Nos. WO 2012/145493, WO 2008/156712, WO 2015/112900, WO 2012/145493, WO 2015/112800, WO 2014/206107, WO 2015/35606, WO 2015/085847, WO 2014/179664, WO 2017/020291, WO 2017/020858, WO 2016/197367, WO 2017/024515, WO 2017/025051, WO 2017/123557, WO 2016/106159, WO 2014/194302, WO 2017/040790, WO 2017/133540, WO 2017/132827, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/106061, WO 2017/19846, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825, y WO 2017/133540.

También se divulga un anticuerpo anti-PD-1 seleccionado del grupo que consiste en nivolumab (también conocido como OPDIVO<sup>®</sup>, 5C4, BMS-936558, MDX-1106 y ONO-4538), pembrolizumab (Merck; también conocido como KEYTRUDA<sup>®</sup>, lambrolizumab y MK-3475; ver WO2008/156712), PDR001 (Novartis; también conocido como spartalizumab; ver WO 2015/112900), MEDI-0680 (AstraZeneca; también conocido como AMP-514; ver WO 2012/145493), cemiplimab (Regeneron; también conocido como REGN-2810; ver WO 2015/112800), JS001 (TAIZHOU JUNSHI PHARMA; ver Si-Yang Liu *et al.*, *J. Hematol. Oncol.* 10:136 (2017)), BGB-A317 ("Tislelizumab;" Beigene; ver WO 2015/35606 y US 2015/0079109), INC5HR1210 (Jiangsu Hengrui Medicine; también conocido como SHR-1210; ver WO 2015/085847; Si-Yang Liu *et al.*, *J. Hematol. Oncol.* 10:136 (2017)), TSR-042 (Tesaro Biopharmaceutical; también conocido como ANB011; ver WO2014/179664), GLS-010 (Wuxi/Harbin Gloria Pharmaceuticals; también conocido como WBP3055; ver Si-Yang Liu *et al.*, *J. Hematol. Oncol.* 10:136 (2017)), AM-0001 (Armo), STI-1110 (Sorrento Therapeutics; ver WO 2014/194302), AGEN2034 (Agenus; ver WO 2017/040790), MGA012 (Macrogenics; ver WO 2017/19846), IBI308 (Innovent; ver WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825, y WO 2017/133540), y BCD-100 (Biocad).

En una modalidad, el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab. Nivolumab es un anticuerpo inhibidor del punto de control inmune PD-1 IgG4 (S228P) completamente humano que previene selectivamente la interacción con ligandos PD-1 (PD-L1 y PD-L2), bloqueando así la regulación negativa de las funciones de las células T antitumorales (patente estadounidense No. 8,008,449; Wang *et al.*, 2014 *Cancer Immunol Res.* 2 (9): 846-56).

El pembrolizumab es un anticuerpo IgG4 monoclonal humanizado (S228P) dirigido contra el receptor de la superficie celular humana PD-1 (muerte programada-1 o muerte celular programada-1). El pembrolizumab se describe, por ejemplo, en las patentes estadounidenses números 8,354,509 y 8,900,587.

Los anticuerpos anti-PD-1 que pueden usarse en las composiciones y métodos descritos también incluyen anticuerpos aislados que se unen específicamente a PD-1 humano y compiten de forma cruzada para unirse a PD-1 humano con cualquier anticuerpo anti-PD-1 descrito en este documento, por ejemplo, nivolumab (véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses Nos. 8,008,449 y 8,779,105; WO 2013/173223). En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 se une al mismo epítipo que cualquiera de los anticuerpos anti-PD-1 descritos en el presente documento, por ejemplo, nivolumab. La capacidad de los anticuerpos para competir de forma cruzada para unirse a un antígeno indica que estos anticuerpos monoclonales se unen a la misma región epítipo del antígeno y obstaculizan estéricamente la unión de otros anticuerpos competidores cruzados a esa región epítipo particular. Se

espera que estos anticuerpos de competencia cruzada tengan propiedades funcionales muy similares a las del anticuerpo de referencia, por ejemplo, nivolumab, en virtud de su unión a la misma región de epítipo de PD-1. Los anticuerpos de competencia cruzada pueden identificarse fácilmente en función de su capacidad para competir de forma cruzada con nivolumab en ensayos de unión de PD-1 estándar, tales como análisis de Biacore, ensayos de ELISA o citometría de flujo (ver, por ejemplo, WO 2013/173223).

En determinadas modalidades, los anticuerpos que compiten de forma cruzada por la unión a PD-1 humana con, o se unen a la misma región de epítipo del anticuerpo PD-1 humano, nivolumab, son anticuerpos monoclonales. Para la administración a sujetos humanos, estos anticuerpos de competencia cruzada son anticuerpos quiméricos, anticuerpos manipulados o anticuerpos humanizados o humanos. Tales anticuerpos monoclonales quiméricos, modificados genéticamente, humanizados o humanos pueden prepararse y aislarse mediante métodos bien conocidos en la técnica.

Los anticuerpos anti-PD-1 que pueden usarse en las composiciones y métodos de la invención también incluyen porciones de unión a antígeno de los anticuerpos anteriores. Se ha demostrado ampliamente que la función de unión al antígeno de un anticuerpo puede llevarse a cabo mediante fragmentos de un anticuerpo de longitud completa.

Los anticuerpos anti-PD-1 adecuados para su uso en las composiciones y métodos descritos son anticuerpos que se unen a PD-1 con alta especificidad y afinidad, bloquean la unión de PD-L1 y/o PD-L2 e inhiben el efecto inmunosupresor de la vía de señalización de PD-1. En cualquiera de las composiciones o métodos descritos en este documento, un "anticuerpo" anti-PD-1 incluye una porción o fragmento de unión a antígeno que se une al receptor de PD-1 y exhibe propiedades funcionales similares a las de los anticuerpos completos para inhibir la unión de ligando y regular al alza el sistema inmunológico. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 o la porción de unión a antígeno del mismo compite de forma cruzada con nivolumab por la unión a PD-1 humana.

En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es un anticuerpo biespecífico. En modalidades particulares, el anticuerpo anti-PD-1 es un anticuerpo biespecífico que se une tanto a PD-1 como a LAG-3.

## 6. Anticuerpos anti-PD-L1

La divulgación incluye el uso de un anticuerpo anti-PD-L1 como inhibidor de la vía de PD-1. Un anticuerpo anti-PD-L1 puede inhibir la unión del receptor PD-L1, es decir, PD-1 a su ligando PD-L1.

Debido a que anti-PD-1 y anti-PD-L1 se dirigen a la misma vía de señalización y se ha demostrado en ensayos clínicos que exhiben niveles similares de eficacia en una variedad de cánceres, incluido el carcinoma de células renales (ver Brahmer *et al.* (2012) *N Engl J Med* 366: 2455-65; Topalian *et al.* (2012a) *N Engl J Med* 366: 2443-54; WO 2013/173223), un anticuerpo anti-PD-L1 puede ser sustituido por el anticuerpo anti-PD-1. En consecuencia, los métodos para tratar a un sujeto que padezca un tumor, por ejemplo, SCLC, que tenga un alto estado de TMB, pueden incluir administrar al sujeto un anticuerpo anti-PD-L1 solo ("monoterapia") o un anticuerpo anti-PD-L1 en combinación con un anticuerpo anti-CTLA-4. Los anticuerpos anti-PD-L1 que se conocen en la técnica incluyen los anticuerpos descritos en la patente estadounidense No. 9,580,507. Se ha demostrado que los anticuerpos monoclonales humanos anti-PD-L1 descritos en la patente estadounidense No. 9,580,507 exhiben una o más de las siguientes características: (a) se unen a PD-L1 humano con una KD de  $1 \times 10^{-7}$  M o menos, de acuerdo con se determina por resonancia de plasmón superficial usando un sistema biosensor Biacore; (b) aumentan la proliferación de células T en un ensayo de reacción de linfocitos mixtos (MLR); (c) aumentan la producción de interferón- $\gamma$  en un ensayo MLR; (d) aumentan la secreción de IL-2 en un ensayo MLR; (e) estimulan las respuestas de anticuerpos; y (f) revierten el efecto de las células reguladoras T sobre las células efectoras de las células T y/o las células dendríticas. Los anticuerpos anti-PD-L1 que pueden usarse en la presente invención incluyen anticuerpos monoclonales que se unen específicamente a PD-L1 humano y exhiben al menos una, en algunos casos, al menos cinco, de las características precedentes.

El anticuerpo anti-PD-L1 se puede seleccionar del grupo que consiste en BMS-936559 (también conocido como 12A4, MDX-1105; ver, por ejemplo, patente estadounidense No. 7,943,743 y WO 2013/173223), atezolizumab (Roche; también conocido como TECENTRIQ<sup>®</sup>, MPDL3280A, RG7446; ver US 8,217,149; ver también Herbst *et al.* (2013) *J Clin Oncol* 31 (supl): 3000), durvalumab (AstraZeneca; también conocido como IMFINZI<sup>™</sup>, MEDI-4736; ver WO 2011/066389), avelumab (Pfizer; también conocido como BAVENCIO<sup>®</sup>, MSB-0010718C; ver WO 2013/079174), STI-1014 (Sorrento; ver WO2013/181634), CX-072 (Cytomx; véase WO2016/149201), KN035 (3D Med/Alphamab; véase Zhang *et al.*, *Cell Discov.* 7: 3 (marzo de 2017), LY3300054 (Eli Lilly Co.; véase, por ejemplo, WO 2017/034916) y CK-301 (Checkpoint Therapeutics; ver Gorelik *et al.*, AACR: Resumen 4606 (abril de 2016)).

El anticuerpo PD-L1 puede ser atezolizumab (TECENTRIQ<sup>®</sup>). El atezolizumab es un anticuerpo anti-PD-L1 monoclonal IgG1 completamente humanizado.

El anticuerpo PD-L1 puede ser durvalumab (IMFINZI<sup>™</sup>). Durvalumab es un anticuerpo anti-PD-L1 monoclonal kappa IgG1 humano.

El anticuerpo PD-L1 puede ser avelumab (BAVENCIO®). Avelumab es un anticuerpo anti-PD-L1 monoclonal lambda IgG1 humano.

Los anticuerpos anti-PD-L1 que pueden usarse en las composiciones y métodos dados a conocer también incluyen anticuerpos aislados que se unen específicamente a PD-L1 humano y compiten de forma cruzada por la unión a PD-L1 humano con cualquier anticuerpo anti-PD-L1 dado a conocer en este documento, por ejemplo, atezolizumab, durvalumab y/o avelumab. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 se une al mismo epítipo que cualquiera de los anticuerpos anti-PD-L1 descritos en este documento, por ejemplo, atezolizumab, durvalumab y/o avelumab. La capacidad de los anticuerpos para competir de forma cruzada por la unión a un antígeno indica que estos anticuerpos se unen a la misma región epítipo del antígeno y dificultan estéricamente la unión de otros anticuerpos que compiten de forma cruzada a esa región epítipo particular. Se espera que estos anticuerpos de competencia cruzada tengan propiedades funcionales muy similares a las del anticuerpo de referencia, por ejemplo, atezolizumab y/o avelumab, en virtud de su unión a la misma región de epítipo de PD-L1. Los anticuerpos de competencia cruzada pueden identificarse fácilmente en función de su capacidad para competir de forma cruzada con atezolizumab y/o avelumab en ensayos de unión de PD-L1 estándar tales como análisis Biacore, ensayos de ELISA o citometría de flujo (ver, por ejemplo, WO 2013/173223).

### 7. Anticuerpos anti-CTLA-4

Un anticuerpo anti-CTLA-4 se puede unir a, e inhibir, CTLA-4. El anticuerpo anti-CTLA-4 puede ser ipilimumab (YERVOY), tremelimumab (ticilimumab; CP-675,206), AGEN-1884 o ATOR-1015.

### 8. Composiciones farmacéuticas

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración a pacientes humanos se formulan típicamente para administración parenteral, por ejemplo, en un vehículo líquido, o adecuadas para reconstitución en solución líquida o suspensión para administración intravenosa.

En general, tales composiciones comprenden típicamente un portador farmacéuticamente aceptable. Como se usa en este documento, el término "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno o listado en la Farmacopea de los Estados Unidos u otra farmacopea generalmente reconocida para uso en animales, particularmente en humanos. El término "portador" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra el compuesto. Tales portadores farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tal como agua y aceites, incluidos los de origen petrolífero, animal, vegetal o sintético, tal como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo, ricinoleato de glicerol polietilenglicol y similares. Se pueden emplear agua o solución acuosa salina y soluciones acuosas de dextrosa y glicerol como vehículos, particularmente para soluciones inyectables (por ejemplo, que comprenden un anticuerpo anti-LAG-3 y anti-PD-1). Las composiciones líquidas para administración parenteral pueden formularse para administración mediante inyección o infusión continua. Las vías de administración por inyección o infusión incluyen intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intratecal y subcutánea. En una modalidad, los anticuerpos anti-LAG-3 y anti-PD-1 se administran por vía intravenosa (por ejemplo, en formulaciones separadas o juntos (en la misma formulación o en formulaciones separadas)).

### 9. Poblaciones de pacientes

En el presente documento se proporcionan métodos clínicos para el melanoma metastásico o irresecable en un paciente humano usando una inmunoterapia descrita en el presente documento, por ejemplo, una combinación de un inhibidor de LAG-3 (por ejemplo, un anticuerpo anti-LAG-3) y un inhibidor de la vía de PD-1 (por ejemplo, un anticuerpo anti-PD-1). La combinación para su uso de acuerdo con la invención reivindicada es para administrarse a un paciente que no ha recibido terapia sistémica previa para melanoma metastásico o irresecable. En determinadas modalidades, el paciente que recibe la inmunoterapia descrita en el presente documento no ha recibido tratamiento previo en el entorno metastásico. En una modalidad, el paciente humano no ha recibido terapia previa para melanoma metastásico o irresecable. En algunas modalidades, las terapias administradas de la presente invención son terapias de primera línea en el contexto metastásico. En algunas modalidades, el melanoma es un melanoma metastásico o irresecable no tratado previamente.

En determinadas modalidades, el paciente recibió tratamiento previo cuando el melanoma estaba localmente avanzado. En una modalidad, el paciente humano recibió una terapia adyuvante de melanoma previa. En una modalidad, la terapia adyuvante de melanoma anterior era una terapia anti-PD-1. En una modalidad diferente, la terapia adyuvante de melanoma anterior era una terapia anti-CTL-4. En determinadas modalidades, el paciente humano recibió una terapia de melanoma neoadyuvante previa. En algunas modalidades, el paciente recibió la terapia en un período de tiempo de más de 6 meses antes de la fecha de recurrencia. En una modalidad adicional, el paciente recibió terapia adyuvante con interferón. En otra modalidad, el paciente recibió terapia con interferón neoadyuvante. En una modalidad, el paciente recibió una terapia que contenía inhibidor de BRAF. En determinadas modalidades, el paciente recibió una terapia que contenía inhibidor de MEK. En una modalidad, el paciente recibió la terapia adyuvante de melanoma previa en un período de tiempo mayor o igual a 6 meses entre la última dosis y la

fecha de recurrencia. En una modalidad, el paciente sufre de melanoma metastásico o irresecable que es refractario al tratamiento con una terapia contra el cáncer. En algunas modalidades, la terapia contra el cáncer puede ser radioterapia, cirugía, quimioterapia, terapia génica, terapia con ADN, terapia viral, terapia con ARN, inmunoterapia, trasplante de médula ósea, nanoterapia, terapia con anticuerpos monoclonales o una combinación de las anteriores. La terapia puede ser en forma de terapia adyuvante o neoadyuvante. "Terapia adyuvante", tal como se usa en el presente documento, se refiere al tratamiento del cáncer administrado después del tratamiento primario para reducir el riesgo de que el cáncer regrese. La terapia adyuvante puede incluir quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal, terapia dirigida o terapia biológica. La terapia adyuvante a menudo se usa después de tratamientos primarios, tal como cirugía o radiación. La terapia adyuvante administrada antes del tratamiento principal se denomina terapia neoadyuvante. Este tipo de terapia adyuvante también puede disminuir la posibilidad de que el cáncer regrese y, a menudo, se usa para hacer que el tratamiento primario, por ejemplo, cirugía o radioterapia, sea más efectivo para reducir la carga tumoral.

En una modalidad, el paciente sufre de melanoma metastásico o irresecable que se prevé que sea refractario al tratamiento con un anticuerpo anti-PD-1. En una modalidad, el melanoma metastásico o irresecable se considera refractario a la terapia anti-PD-1 basándose en el análisis de biomarcadores.

Los pacientes pueden probarse o seleccionarse para uno o más de los atributos clínicos descritos anteriormente antes, durante o después del tratamiento.

En algunas modalidades, el paciente es un adolescente de 12 a 17 años.

## 10. Inmunoterapias

Las inmunoterapias proporcionadas en este documento implican la administración de un inhibidor de LAG-3 (por ejemplo, un anticuerpo anti-LAG-3) y un inhibidor de la vía de PD-1 (por ejemplo, un anticuerpo anti-PD-1 o un anticuerpo anti-PD-L1) para tratar el melanoma metastásico o irresecable.

En una modalidad, la invención proporciona un anticuerpo anti-LAG-3 y un anticuerpo anti-PD-1 de acuerdo con un régimen de dosificación clínica definido, para tratar sujetos que tienen melanoma metastásico o irresecable, como se define en las reivindicaciones. En una modalidad particular, el anticuerpo anti-LAG-3 es BMS-986016. En otra modalidad, el anticuerpo anti-PD-1 es BMS-936558. En otra modalidad, los regímenes de dosificación son fijos. En otra modalidad, los regímenes de dosificación se ajustan para proporcionar la respuesta óptima deseada (por ejemplo, una respuesta eficaz). En una modalidad, el anticuerpo anti-LAG-3 y el anticuerpo anti-PD-1 se administran a 160 mg de anticuerpo anti-LAG-3 y 480 mg de anticuerpo anti-PD-1. La relación de anticuerpo anti-LAG-3 a anticuerpo anti-PD-1 es 1:3.

Como se usa en este documento, la administración complementaria o combinada (coadministración) incluye la administración simultánea de los compuestos en la misma o diferente forma de dosificación, o la administración separada de los compuestos (por ejemplo, administración secuencial). Así, por ejemplo, los anticuerpos anti-LAG-3 y anti-PD-1 pueden administrarse simultáneamente en una única formulación. Como alternativa, los anticuerpos anti-LAG-3 y anti-PD-1 se pueden formular para una administración separada y se administran de forma concurrente o secuencial (por ejemplo, un anticuerpo se administra dentro de aproximadamente 30 minutos antes de la administración del segundo anticuerpo).

Por ejemplo, el anticuerpo anti-PD-1 se puede administrar primero seguido (por ejemplo, inmediatamente seguido de) la administración del anticuerpo anti-LAG-3, o viceversa. En una modalidad, el anticuerpo anti-PD-1 se administra antes de la administración del anticuerpo anti-LAG-3. En otra modalidad, el anticuerpo anti-PD-1 se administra después de la administración del anticuerpo anti-LAG-3. En otra modalidad, el anticuerpo anti-LAG-3 y el anticuerpo anti-PD-1 se administran al mismo tiempo. Tal administración simultánea o secuencial preferiblemente da como resultado que ambos anticuerpos estén presentes simultáneamente en los pacientes tratados.

## 11. Protocolos de tratamiento

Los protocolos de tratamiento adecuados para tratar un tumor maligno en un paciente humano incluyen administrar al paciente una cantidad eficaz de un inhibidor de LAG3 (por ejemplo, un anticuerpo anti-LAG-3) y un inhibidor de la vía de PD-1 (por ejemplo, un anticuerpo anti-PD-1).

Un protocolo de tratamiento adecuado ilustrativo para tratar un tumor maligno en un paciente humano incluye, por ejemplo, administrar al paciente una cantidad eficaz de cada uno de:

(a) un anticuerpo anti-LAG-3, tal como uno que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 5, y

(b) un anticuerpo anti-PD-1, tal como uno que comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable

de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 15, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 17;

en donde el método comprende al menos un ciclo de administración, en donde el ciclo es un período de 4 semanas, en donde para cada uno de los al menos un ciclo, se administra al menos una dosis del anticuerpo anti-LAG-3 en una dosis de aproximadamente 1, aproximadamente 3, aproximadamente 10, aproximadamente 20, aproximadamente 50, aproximadamente 80, aproximadamente 100, aproximadamente 120, aproximadamente 130, aproximadamente 150, aproximadamente 160, aproximadamente 180, aproximadamente 200, aproximadamente 240, aproximadamente 280, aproximadamente 300, aproximadamente 320, aproximadamente 360, aproximadamente 400, aproximadamente 440, aproximadamente 480 o aproximadamente 500 mg y al menos una dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de aproximadamente 50, aproximadamente 80, aproximadamente 100, aproximadamente 130, aproximadamente 150, aproximadamente 180, aproximadamente 200, aproximadamente 240, aproximadamente 280, aproximadamente 320, aproximadamente 360, aproximadamente 400, aproximadamente 440, aproximadamente 480, aproximadamente 500, aproximadamente 520, aproximadamente 560, aproximadamente 600, aproximadamente 650, aproximadamente 700 o aproximadamente 800 mg. En otra modalidad, se administra una dosis del anticuerpo anti-LAG-3 a una dosis de 0.01, 0.03, 0.25, 0.1, 0.3, 1 o 2, 3, 5, 8 o 10 mg/kg de peso corporal y una dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de 0.1, 0.3, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mg/kg de peso corporal.

El anticuerpo anti-LAG-3 y el anticuerpo anti-PD-1 para su uso de acuerdo con la invención se administran a 160 mg de anticuerpo anti-LAG-3 y 480 mg de anticuerpo anti-PD-1.

El tumor es un melanoma metastásico o irresecable, y el paciente no ha recibido ningún tratamiento sistémico previo para el melanoma metastásico o el melanoma irresecable. En una modalidad adicional, el tumor es un melanoma metastásico o irresecable no tratado previamente.

En una modalidad, la invención proporciona un método para inhibir el crecimiento de un tumor de melanoma metastásico en un paciente humano, en donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de: (a) 160 mg del anticuerpo anti-LAG-3; y (b) 480 mg del anticuerpo anti-PD-1 en donde el paciente no ha recibido tratamiento previo para el melanoma metastásico (es decir, en donde el tratamiento es un tratamiento de primera línea). En determinadas modalidades, el paciente no ha recibido una cirugía previa por melanoma. En otra modalidad, el paciente no ha recibido radiación. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 es relatlimab y el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab. En una modalidad, un ciclo de administración es de cuatro semanas (Q4W), que puede repetirse, según sea necesario.

En una modalidad, la invención proporciona un método para inhibir el crecimiento de un tumor de melanoma irresecable en un paciente humano, en donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de: (a) 160 mg del anticuerpo anti-LAG-3; y (b) 480 mg del anticuerpo anti-PD-1 en donde el paciente no ha recibido un tratamiento previo para el melanoma irresecable (es decir, en donde el tratamiento es un tratamiento de primera línea). En determinadas modalidades, el paciente no ha recibido una cirugía previa por melanoma. En otra modalidad, el paciente no ha recibido radiación. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 es relatlimab y el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab. En una modalidad, un ciclo de administración es de cuatro semanas (Q4W), que puede repetirse, según sea necesario.

En otra modalidad, la cantidad de anticuerpos anti-LAG-3 y/o anti-PD-1 administrados es constante para cada dosis. En otra modalidad, la cantidad de anticuerpo administrada varía con cada dosis. Por ejemplo, la dosis de mantenimiento (o de seguimiento) del anticuerpo puede ser mayor o igual que la dosis de carga que se administra en primer lugar. En otra modalidad, la dosis de mantenimiento del anticuerpo puede ser menor o igual que la dosis de carga.

En otra modalidad, los anticuerpos anti-LAG-3 y anti-PD-1 se formulan para administración intravenosa. En una modalidad, el anticuerpo anti-LAG-3 y el anticuerpo anti-PD-1 se administran los días 1 y 28 de cada ciclo.

En otra modalidad, un ciclo de administración es de cuatro semanas, que puede repetirse, según sea necesario.

En una modalidad, el anticuerpo anti-LAG-3 es BMS-986016 y el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1 es un anticuerpo biespecífico. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3-1 es un anticuerpo biespecífico. En modalidades particulares, el anticuerpo biespecífico se une tanto a PD-1 como a LAG-3.

## 12. Resultados

Un paciente tratado de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento preferiblemente experimenta una mejora en al menos un signo de cáncer. En una modalidad, la mejora se mide mediante una reducción en la cantidad y/o tamaño de las lesiones tumorales medibles. En otra modalidad, las lesiones se pueden medir en radiografías de tórax o en películas de TC o IRM. En otra modalidad, se puede usar citología o histología para

evaluar la capacidad de respuesta a una terapia.

En una modalidad, el paciente tratado exhibe una respuesta completa (PR), una respuesta parcial (PR), enfermedad estable (SD), enfermedad completa relacionada con el sistema inmunitario (irCR), respuesta parcial relacionada con el sistema inmunitario (irPR) o enfermedad estable relacionada con el sistema inmunitario (IRSD). En otra modalidad, el paciente tratado experimenta una contracción del tumor y/o una disminución en la tasa de crecimiento, es decir, supresión del crecimiento del tumor. En otra modalidad, se reduce o inhibe la proliferación celular no deseada. En otra modalidad más, pueden ocurrir uno o más de los siguientes: se puede reducir el número de células cancerosas; se puede reducir el tamaño del tumor; la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos puede inhibirse, retrasarse, ralentizarse o detenerse; la metástasis tumoral se puede ralentizar o inhibir; se puede inhibir el crecimiento tumoral; la recurrencia del tumor se puede prevenir o retrasar; uno o más de los síntomas asociados con el cáncer pueden aliviarse hasta cierto punto.

En otras modalidades, la administración de cantidades eficaces del anticuerpo anti-LAG-3 y del anticuerpo anti-PD-1 de acuerdo con cualquiera de los métodos proporcionados en el presente documento produce al menos un efecto terapéutico seleccionado del grupo que consiste en la reducción del tamaño de un tumor, reducción del número de lesiones metastásicas que aparecen con el tiempo, remisión completa, remisión parcial o enfermedad estable.

En otras modalidades más, los métodos de tratamiento producen una tasa de beneficio clínico ( $CBR=CR+PR+SD \geq 6$  meses) mejor que la lograda por un método de tratamiento que no comprende un paso de (i) determinar el nivel de expresión de LAG-3, PD-L1 y/o BRAF V600 en una muestra de tumor antes del tratamiento, y (ii) tratar el tumor. En otras modalidades, la mejora de la tasa de beneficio clínico es de aproximadamente 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o más en comparación con un método de tratamiento que no comprende un paso de (i) determinar el nivel de expresión de LAG-3, PD-L1 y/o BRAF V600 en una muestra de tumor antes del tratamiento, y (ii) tratar el tumor. En otras modalidades más, los métodos de tratamiento producen una tasa de respuesta objetiva ( $ORR=CR+PR$ ) de al menos aproximadamente 15 %, al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 25 %, al menos aproximadamente 30 %, al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 % o aproximadamente 100 %.

### 13. Kits y formas de dosificación unitarias

También se proporcionan kits de diagnóstico que comprenden un anticuerpo anti-LAG-3 para analizar la expresión de LAG-3 como un biomarcador para tamizar pacientes para la inmunoterapia o para predecir la eficacia de la inmunoterapia. Los kits suelen incluir una etiqueta que indica el uso previsto del contenido del kit y las instrucciones de uso. El término "etiqueta" incluye cualquier escritura o material grabado suministrado en o con el kit, o que de otro modo acompañe al kit. Un kit de diagnóstico puede comprender un primer anticuerpo anti-LAG-3 para analizar, detectar y/o cuantificar la expresión de LAG-3 envasado conjuntamente con al menos un anticuerpo terapéutico (por ejemplo, un segundo anticuerpo anti-LAG-3 y un anticuerpo anti-PD-1) para el tratamiento de un melanoma metastásico o irsecable. Un kit puede comprender además un anticuerpo anti-PD-L1 para ensayar, detectar y/o cuantificar la expresión de PD-L1 como un biomarcador para predecir la eficacia de la inmunoterapia. La inmunoterapia puede comprender administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de LAG-3 (por ejemplo, anticuerpo anti-LAG-3) y un inhibidor de la vía de PD-1 (por ejemplo, anticuerpo anti-PD1).

El kit de diagnóstico puede comprender un anticuerpo monoclonal anti-LAG-3 humano para ensayar, detectar y/o cuantificar la expresión de LAG-3. Véase, por ejemplo, J. Matsuzaki, *et al.*; *PNAS* 107, 7875 (2010).

También se proporcionan en este documento kits terapéuticos que incluyen una composición farmacéutica que contiene un anticuerpo anti-LAG-3, tal como BMS-986016, y un anticuerpo anti-PD-1, tal como nivolumab, en una cantidad terapéuticamente eficaz adaptada para su uso. En los métodos anteriores. El anticuerpo anti-LAG-3 puede empaquetarse conjuntamente con un anticuerpo anti-PD-1 en forma de dosificación unitaria. Los kits también pueden incluir opcionalmente instrucciones, por ejemplo, que comprenden programas de administración, para permitir que un médico (por ejemplo, un médico, enfermero o paciente) administre la composición contenida en el mismo para administrar la composición a un paciente que tenga cáncer (por ejemplo, un tumor sólido). El kit también puede incluir una jeringa.

Opcionalmente, los kits de diagnóstico y/o terapéuticos incluyen múltiples paquetes de composiciones farmacéuticas de dosis única, cada uno de los cuales contiene una cantidad eficaz del anticuerpo anti-LAG-3 o anti-PD-1 para una sola administración de acuerdo con los métodos proporcionados anteriormente. Los instrumentos o dispositivos necesarios para administrar la composición o composiciones farmacéuticas también pueden incluirse en los kits. Por ejemplo, un kit puede proporcionar una o más jeringas precargadas que contienen una cantidad del anticuerpo anti-LAG-3 o anti-PD-1.

Un kit para tratar a un paciente que padezca melanoma metastásico o irsecable, por ejemplo, puede comprender:

(a) una dosis de un anticuerpo anti-LAG-3, tal como uno que comprenda los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la

región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 3, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 5;

5 (b) una dosis de un anticuerpo anti-PD-1, tal como uno que comprenda los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 15, y los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia indicada en SEQ ID NO: 17; y

10 (c) instrucciones para usar el anticuerpo anti-LAG-3 y el anticuerpo anti-PD-1 en los métodos descritos en el presente documento.

La presente invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos.

**Ejemplos**

15 **Ejemplo 1**

Eficacia del anticuerpo del gen 3 de activación antilinfocitos (Anti-LAG-3; BMS-986016) en combinación con nivolumab en pacientes con melanoma metastásico o irreseccable no tratado previamente

20 El propósito de este estudio es evaluar la combinación de BMS-986016 (relatlimab) y nivolumab (BMS936558) en el tratamiento del melanoma metastásico o irreseccable.

25 Los pacientes se seleccionan con base en los siguientes criterios de elegibilidad: (1) que tienen melanoma metastásico o irreseccable; (2) ninguna terapia sistémica previa para la enfermedad metastásica o irreseccable; (3) Eastern Cooperative Oncology Group PS 0-1; (4) tejido tumoral disponible para análisis de biomarcadores. Los pacientes se estratifican por: (1) expresión de PD-L1 de células tumorales ( $\geq 1\%$  o  $<1\%$ ) determinada usando el kit Dako PD-L1 IHC 28-8; (2) expresión de LAG-3 de células inmunes ( $\geq 1\%$  o  $<1\%$ ) determinada usando el clon de anticuerpo de ratón 17B4; (3) mutante de BRAF V600 frente a expresión de BRAF tipo salvaje; y (4) etapa del Comité Conjunto Estadounidense sobre el Cáncer (octava edición).

30 Durante la fase de tratamiento, los pacientes adultos recibirán 160 mg de BMS-986016 (relatlimab) y 480 mg de nivolumab para cada ciclo de tratamiento cada cuatro semanas. Los pacientes adolescentes de 12 a 17 años también deben tener un estado funcional de Lansky superior o igual al 80 %. Los pacientes adolescentes de menos de 40 kg recibirán BMS-986016 (relatlimab) a una dosis de 2 mg/kg y nivolumab a una dosis de 6 mg/kg para cada ciclo de tratamiento cada cuatro semanas.

**Secuencias**

40 SEQ ID NO:1 Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada; mAb anti-LAG-3 (BMS-986016)

45 QVQLQQWVAGLLKPKSETLSLTCAVYGGSFSDYYWNWIRQPPGKGLEWIGEINHRGSTNSNPSLKSRTVLSLDTSKN  
QFSLKLRVTAADTAVYYCAFGYSYDYENWFDPWGQGLTQVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF  
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP  
APEFLGGPSVFLFPPKPKDRLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT  
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSQQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN  
GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

50 SEQ ID NO:2 Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera; mAb anti-LAG-3 (BMS-986016)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAITGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELP  
EDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTNLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG  
NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

55 SEQ ID NO:3 Secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (VH); mAb anti-LAG-3 (BMS-986016)

QVQLQQWVAGLLKPKSETLSLTCAVYGGSFSDYYWNWIRQPPGKGLEWIGEINHRGSTNSNPSLKSRTVLSLDTSKN  
QFSLKLRVTAADTAVYYCAFGYSYDYENWFDPWGQGLTQVSS

60 SEQ ID NO:4 Secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena pesada (VH); mAb anti-LAG-3 (BMS-986016)

65 cagggtcagctacagcagtgggcgaggactgtgaagcctcggagaccctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtcctcagtgattactactggaactgga  
tccgccagcccccagggaagggctggagtgattggggaatcaatcatcgtggaagcaccactcaaccctcctcaagagtcgagtcaccctatcactag  
acacgtccaagaaccagttctccctgaagctgaggtctgtgaccgccggacacggctgtgtattactgtgctttggatagtgactacgagtcacaactggtcca  
cccctggggccagggaaccctggtcaccgtctcctca

# ES 2 986 921 T3

SEQ ID NO:5 Secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (VL); mAb anti-LAG-3 (BMS-986016)

5 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEP  
EDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTNLEIK

SEQ ID NO:6 Secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena ligera (VL); mAb anti-LAG-3 (BMS-986016)

10 gaaattgtgtgacacagctccagccaccctgtcttgtctccaggggaaagagccaccctcctcagggccagtcagagtattagcagctacttagcctgtacc  
aacagaaacctggccaggctcccaggctcctcatgatgatcatcaacagggccactggcatcccagccaggttcagtgccagtggtctgggacagactcac  
tctcacatcagcagcctagagcctgaagatttgcagtttactgtcagcagcgtagcaactggcctcactttggccaggggaccaacctggagatcaaa

15 SEQ ID NO:7 Secuencia de aminoácidos de la CDR1 de la cadena pesada; mAb anti-LAG-3 (BMS-986016)

DYYWN

SEQ ID NO:8 Secuencia de aminoácidos de la CDR2 de la cadena pesada; mAb anti-LAG-3 (BMS-986016)

20 EINHRGSTNSNPSLKS

SEQ ID NO:9 Secuencia de aminoácidos de la CDR3 de la cadena pesada; mAb anti-LAG-3 (BMS-986016)

25 GYSDEYNWFDP

SEQ ID NO:10 Secuencia de aminoácidos de la CDR1 de la cadena ligera; mAb anti-LAG-3 (BMS-986016)

30 RASQSISSYLA

SEQ ID NO:11 Secuencia de aminoácidos de la CDR2 de la cadena ligera; mAb anti-LAG-3 (BMS-986016)

DASNRAT

35 SEQ ID NO:12 Secuencia de aminoácidos de la CDR3 de la cadena ligera; mAb anti-LAG-3 (BMS-986016)

QQRSNWPLT

SEQ ID NO:13 Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada; mAb anti-PD-1 (BMS936558)

40 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWRQAPGKGLEWAVIWIYDGSKRYYADSVKGRFTISRDN  
KNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT  
SWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPCPPCPAPEFLG  
45 GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD  
WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN  
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGLK

SEQ ID NO:14 Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera; mAb anti-PD-1 (BMS936558)

50 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLE  
PEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS  
GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:15 Secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (VH); mAb anti-PD-1 (BMS936558)

55 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWRQAPGKGLEWAVIWIYDGSKRYYADSVKGRFTISRDN  
KNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLVTVSS

60 SEQ ID NO:16 Secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena pesada (VH); mAb anti-PD-1 (BMS936558)

65 cagggtgcagctggtggagctctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactcgactgtaagcgtctggaatcacctcagtaactctggcatgactg  
ggtccgccaggctccaggcaaggggctggagtggtggcagttatttggtatgatggaagtaaaagatactatgcagactccgtgaagggccgattcaccatctcca  
gagacaattccaagaacacgctgttctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacgctgtgtattactgtgcgacaaacgacgactactggggccagggga  
acctggtcaccgtctcctca

# ES 2 986 921 T3

SEQ ID NO:17 Secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (VL); mAb anti-PD-1 (BMS936558)

5 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSE  
PEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO:18 Secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena ligera (VL); mAb anti-PD-1 (BMS936558)

10 gaaattgtgtgacacagctccagccaccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccctctcctgcaggccagtcagagtgtagtagtacttagcctgttacc  
acagaaacctggccaggtcccaggtcctcatctatgatgcatccaacagggccactggcatcccagccaggtcagtgccagtggtctgggacagacttact  
ctcaccatcagcagcctagagcctgaagattttgcagttattactgtcagcagagtagcaactggcctcggagctcggccaagggaccaagtggaatcaaa

15 SEQ ID NO:19 Secuencia de aminoácidos de la CDR1 de la cadena pesada; mAb anti-PD-1 (BMS936558)

NSGMH

SEQ ID NO:20 Secuencia de aminoácidos de la CDR2 de la cadena pesada; mAb anti-PD-1 (BMS936558)

20 VIWYDGSKRYADSVKG

SEQ ID NO:21 Secuencia de aminoácidos de la CDR3 de la cadena pesada; mAb anti-PD-1 (BMS936558)

25 NDDY

SEQ ID NO:22 Secuencia de aminoácidos de la CDR1 de la cadena ligera; mAb anti-PD-1 (BMS936558)

30 RASQSVSSYLA

SEQ ID NO:23 Secuencia de aminoácidos de la CDR2 de la cadena ligera; mAb anti-PD-1 (BMS936558)

DASNRAT

35 SEQ ID NO:24 Secuencia de aminoácidos de la CDR3 de la cadena ligera; mAb anti-PD-1 (BMS936558)

QQSSNWPRT

SEQ ID NO:25 Secuencia de nucleótidos de la cadena pesada; mAb anti-LAG-3 (BMS-986016)

40 cagggtgcagctacagcagtgggcgccaggtgtgaagcctcggagaccctgtccctcacctgcgctgtctatggtggcctcagtgattactactggaactgga  
tccgccagccccagggaagggctggagtgattgggaaatcaatcatcgtggaagcacaactccaaccctcccaagagtcagtcacccatcactag  
acacgtccaagaaccaggtctcctgaagctgaggtctgtgaccgcccggacacggctgtgattactgtgctttggatagtgactacgagtaactggtcga  
45 cccctgggcccagggaaacctggtcaccgtctcctcagctagccaagggccatcctcctccctggcgcctcctcagcagcactccgagcagcagc  
cgccctgggctgctggtcaaggactactccccgaaccggtgacggtgctggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacacctccccggtgctcctacgt  
cctcaggacttactccctcagcagcgtggtgaccgtgcccctccagcagctgggcaagaagcctacacctgcaacgtatgatacaagcccagcaaccaag  
gtggacaagagagtgagtcacaataggtccccatgcccaccatgcccagcacctgagttcctgggggaccatcagttcctgttcccccaaacccaagga  
cactctcatgatccccggaccctgaggtcagctgctggtggtgagcgtgagccaggaagaccctgaggtcactggtacgtggtgaggtg  
cataatccaagacaagccgcccggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtgctcagcgtcctcaccgtcctgaccaggaactggctgaacggcaaggagt  
50 acaagtgaaggtccaacaagaaggcctcccgtcctcatcgagaaaaccatcctcaaaagccaagggcagccccgagagccaaggtgtacacctgcccc  
atcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctgtgcaaaagccttctccccagcgacatgcccgtggagtgaggagcaatggcagccg  
gagaacaactacaagaccagcctcccgtgctggactccgacggctcctctcctcctacagcaggtaaccgtggacaagagcaggtggcaggagggaatgtc  
ttctcatgctccgtgatgatgaggtctgcacaaccactacacagaagagcctcctcctgctctggttaaatga

55 SEQ ID NO:26 Secuencia de nucleótidos de la cadena ligera; mAb anti-LAG-3 (BMS-986016)

Gaaattgtgtgacacagctccagccaccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccctctcctgcaggccagtcagagttatagcagctacttagcctgttacc  
aacagaaaacctggccaggtcccaggtcctcatctatgatgcatccaacagggccactggcatcccagccaggtcagtgccagtggtctgggacagacttac  
tctaccatcagcagcctagagcctgaagattttgcagttattactgtcagcagcgtagcaactggcctcactttggccaggggaccaacctggagatcaaacgt  
60 acggtgctgcaccatctgtctcctcccctctgatgagcagttgaaatctggaactgctcctgtgtgctgctgtaataactctatcccagagaggccaag  
tacagtggaaggtgataacgcccctcaatcgggtaactcccaggagaggtgcacagagcaggacagcaaggacagcactacagcctcagcagcaccctgac  
gctgagcaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtaaccatcaggccctgagctcgcctgcacaaagagcttcaacaggggagaggtg  
tag

65 SEQ ID NO: 27 epítipo de LAG-3

# ES 2 986 921 T3

PGHPLAPG

SEQ ID NO: 28 epítipo de LAG-3

5 HPAAPSSW

SEQ ID NO: 29 epítipo de LAG-3

PAAPSSWG

10

SEQ ID NO:30 Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada; mAb anti-LAG-3 (BMS-986016) sin lisina terminal

15 QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGGSFSDYYWNWIRQPPGKLEWIGEINHRGSTNSNPSLKSRVTLSLDTSKN  
QFSLKLRVTAADTAVYYCAFGYSDYEYNWFDWPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF  
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP  
APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT  
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN  
GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG

REIVINDICACIONES

1. Una combinación que comprende un anticuerpo anti-LAG-3 y un anticuerpo anti-PD-1 para su uso en un método para tratar un tumor de melanoma metastásico o un tumor de melanoma irreseccable en un paciente humano, comprendiendo el método administrar al paciente 160 mg del anticuerpo anti-LAG-3 y 480 mg del anticuerpo anti-PD-1 y en donde el paciente no ha recibido ningún tratamiento sistémico previo para el melanoma metastásico o el melanoma irreseccable,
- 5
- en donde el anticuerpo anti-LAG-3 comprende dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO:3, y dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO:5, y
- 10
- en donde el anticuerpo anti-PD-1 comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 15, y dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO:17.
- 15
2. Un anticuerpo anti-LAG-3 para su uso en un método para tratar un tumor de melanoma metastásico o un tumor de melanoma irreseccable en un paciente humano, comprendiendo el método administrar al paciente 160 mg del anticuerpo anti-LAG-3 y 480 mg de un anticuerpo anti-PD-1 y en donde el paciente no ha recibido ningún tratamiento sistémico previo para el melanoma metastásico o el melanoma irreseccable,
- 20
- en donde el anticuerpo anti-LAG-3 comprende dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO:3, y dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO:5, y
- 25
- en donde el anticuerpo anti-PD-1 comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 15, y dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO:17.
3. Un anticuerpo anti-PD-1 para su uso en un método para tratar un tumor de melanoma metastásico o un tumor de melanoma irreseccable en un paciente humano, comprendiendo el método administrar al paciente 160 mg de un anticuerpo anti-LAG-3 y 480 mg del anticuerpo anti-PD-1 y en donde el paciente no ha recibido ningún tratamiento sistémico previo para el melanoma metastásico o el melanoma irreseccable,
- 30
- en donde el anticuerpo anti-LAG-3 comprende dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO:3, y dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO:5, y
- 35
- en donde el anticuerpo anti-PD-1 comprende los dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena pesada que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO: 15, y dominios CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera que tiene la secuencia establecida en SEQ ID NO:17.
4. La combinación, anticuerpo anti-LAG-3 o anticuerpo anti-PD-1 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el paciente tiene melanoma en estadio III o IV irreseccable confirmado histológicamente.
- 40
5. La combinación, anticuerpo anti-LAG-3 o anticuerpo anti-PD-1 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el paciente:
- 45
- tiene 12 años o más, o
- tiene un estado funcional del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) de 0 o 1,
- o
- 50
- tiene una puntuación de rendimiento Lansky del 80 % o más, o
- tiene un estado funcional del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) de 0 o 1 y una puntuación de rendimiento Lansky del 80 % o más, o
- tiene una enfermedad medible de acuerdo con lo determinado por los Criterios de Evaluación de Respuesta en Tumores Sólidos (RECIST) versión 1.1.
- 55
6. La combinación, anticuerpo anti-LAG-3 o anticuerpo anti-PD-1 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5,
- 60
- en donde más del 1 % de los linfocitos infiltrantes de tumor del paciente expresan LAG-3, y/o
- en donde las células tumorales del paciente contienen una mutación BRAF V600.
7. La combinación, anticuerpo anti-LAG-3 o anticuerpo anti-PD-1 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6,
- 65
- en donde el anticuerpo anti-LAG-3 es un anticuerpo de longitud completa y/o en donde el anticuerpo anti-PD-1 es un anticuerpo de longitud completa, y/o

en donde el anticuerpo anti-LAG-3 es un anticuerpo monoclonal, humano, humanizado, quimérico o multiespecífico, y/o

en donde el anticuerpo anti-PD-1 es un anticuerpo monoclonal, humano, humanizado, quimérico o multiespecífico, y/o

5 en donde el anticuerpo anti-LAG-3 es un anticuerpo multiespecífico que es un anticuerpo de reorientación de doble afinidad (DART), un DVD-Ig o un anticuerpo biespecífico, y/o  
en donde el anticuerpo anti-PD-1 es un anticuerpo biespecífico.

10 8. La combinación, anticuerpo anti-LAG-3 o anticuerpo anti-PD-1 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7,

en donde el anticuerpo anti-LAG-3 y el anticuerpo anti-PD-1 se formulan para administración parenteral, opcionalmente en donde el anticuerpo anti-LAG-3 y el anticuerpo anti-PD-1 se formulan para administración intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intratecal o subcutánea, o

15 en donde el anticuerpo anti-LAG-3 y el anticuerpo anti-PD-1 se formulan juntos, o

en donde el anticuerpo anti-LAG-3 y el anticuerpo anti-PD-1 se formulan por separado.

20 9. La combinación, anticuerpo anti-LAG-3 o anticuerpo anti-PD-1 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, comprendiendo el método:

(a) determinar la expresión de LAG-3 en los linfocitos infiltrantes de tumor del paciente, expresión de PD-L1 en las células tumorales del paciente y/o determinar la presencia de una mutación de BRAF V600 en las células tumorales del paciente; y

25 (b) administrar al paciente el anticuerpo anti-LAG-3 y el anticuerpo anti-PD-1.

30 10. La combinación, anticuerpo anti-LAG-3 o anticuerpo anti-PD-1 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, comprendiendo el método:

(a) determinar el nivel de expresión de LAG-3 o el nivel de expresión de LAG-3 y PD-L1 en una muestra de tumor, opcionalmente determinar la presencia de células tumorales que expresan la mutación BRAF V600; y

35 (b) administrar al paciente el anticuerpo anti-LAG-3 y el anticuerpo anti-PD-1.

40 11. La combinación, anticuerpo anti-LAG-3 o anticuerpo anti-PD-1 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el anticuerpo anti-LAG-3 comprende:

(a) relatlimab,

(b) dominios CDR1, CDR2, CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden la secuencia establecida en SEQ ID NO:7, 8 y 9, respectivamente, y dominios CDR1, CDR2, CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden la secuencia establecida en SEQ ID NO:10, 11 y 12, respectivamente;

45 (c) regiones variables de cadena pesada y ligera que comprenden las secuencias establecidas en SEQ ID NO:3 y 5, respectivamente; o

(d) cadenas pesada y ligera que comprenden las secuencias establecidas en SEQ ID NO: 1 y 2, respectivamente.

50 12. La combinación, anticuerpo anti-LAG-3 o anticuerpo anti-PD-1 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el anticuerpo anti-PD-1 comprende:

(a) nivolumab,

(b) dominios CDR1, CDR2, y CDR3 de la región variable de cadena pesada que comprenden la secuencia establecida en SEQ ID NO:19, 20 y 21, respectivamente, y dominios CDR1, CDR2, y CDR3 de la región variable de cadena ligera que comprenden la secuencia establecida en SEQ ID NO:22, 23 y 24, respectivamente; o

(c) regiones variables de cadena pesada y ligera que comprenden las secuencias establecidas en SEQ ID NO: 15 y 17, respectivamente.