



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
*G01N 33/74 (2013.01)*

(21)(22) Заявка: 2015125638, 29.11.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
**29.11.2013**

Дата регистрации:  
27.06.2019

### Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

(43) Дата публикации заявки: 11.01.2017 Бюл. № 2

(45) Опубликовано: 27.06.2019 Бюл. № 18

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 30.06.2015

(86) Заявка PCT:  
EP 2013/075162 (29.11.2013)

(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2014/083178 (05.06.2014)

Адрес для переписки:  
105082, Москва, Спартаковский пер., 2, стр. 1,  
секция 1, этаж 3, ЕВРОМАРКПАТ

(72) Автор(ы):

БЕЛОУСОВ Антон (DE),  
БЬЯНКИНИ Джампаоло (IT),  
ДЖАННИ Лука (IT),  
ТОМАС Марлене (DE)

(73) Патентообладатель(и):

## Ф.ХОФФМАНН-ЛЯ РОШ АГ (СН)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: WO 2011/109789 A2, 09.09.2011. US 2002/0076695 A1, 20.06.2002. RU 2010142390 A, 27.04.2012. WO 2006133396 A2, 03.06.2011. WO 2011066342 A2, 03.06.2011. Murali Janakiram, M.D. et al. T Cell Coinhibition and Immunotherapy in Human Breast Cancer // Discov Med. 2012 Oct; 14(77): 229-236; John Stagg et al. Anti-ErbB-2 mAb therapy requires type I and (см. прод.)

(54) ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПАЦИЕНТОВ, НУЖДАЮЩИХСЯ В СОВМЕСТНОЙ ТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНГИБИТОРА PD-L1

### (57) Реферат:

Группа изобретений относится к химико-фармацевтической промышленности и представляет собой способ определения потребности ракового пациента в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1 - лиганда программируемой клеточной гибели-1, в котором для пациента показана терапия, включающая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, или в котором пациент подвергается терапии, включающей модулятор пути передачи

сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство; включающий стадии, на которых: измеряют *in vitro* в образце из организма указанного пациента уровни экспрессии рецептора эстрогена (ER), PD-L1 и гамма-интерферона (IFN $\gamma$ ) и классифицируют указанного пациента как нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, если установлен ER-негативный уровень экспрессии, повышенный уровень экспрессии PD-L1 по сравнению с пороговым значением PD-L1

и сниженный уровень экспрессии IFN $\gamma$  по сравнению с пороговым значением IFN $\gamma$ . Изобретения также включают применение сигнального пути Her2/neu (ErbB2), PD-L1 ингибитора и химиотерапевтического агента, а также фармацевтической композиции, содержащей данные агенты, при лечении рака, где для этого рака определен ER-негативный уровень экспрессии, повышенный уровень

экспрессии PD-L1 по сравнению с пороговым значением PD-L1 и сниженный уровень экспрессии IFN $\gamma$  по сравнению с пороговым значением IFN $\gamma$ . Группа изобретений позволяет определить, нуждается ли пациент в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1 и модулятора пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) для лечения рака. 3 н. и 22 з.п. ф-лы, 19 ил., 6 табл., 1 пр.

(56) (продолжение):

II interferons and synergizes with anti-PD-1 or anti-CD137 mAb therapy // PNAS April 26, 2011. 108 (17) 7142-7147.

R U 2 6 9 2 7 7 3 C 2

RUSSIAN FEDERATION



(19)

RU (11)

2 692 773<sup>(13)</sup> C2

(51) Int. Cl.  
*G01N 33/74* (2006.01)

FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC  
*G01N 33/74 (2013.01)*

(21)(22) Application: 2015125638, 29.11.2013

(24) Effective date for property rights:  
29.11.2013

Registration date:  
27.06.2019

Priority:

(30) Convention priority:  
30.11.2012 EP 12195182.6;  
07.12.2012 EP 12196177.5

(43) Application published: 11.01.2017 Bull. № 2

(45) Date of publication: 27.06.2019 Bull. № 18

(85) Commencement of national phase: 30.06.2015

(86) PCT application:  
EP 2013/075162 (29.11.2013)

(87) PCT publication:  
WO 2014/083178 (05.06.2014)

Mail address:  
105082, Moskva, Spartakovskij per., 2, str. 1,  
sektsiya 1, etazh 3, EVROMARKPAT

(72) Inventor(s):

BELOUSOV Anton (DE),  
BYANKINI Dzhampaolo (IT),  
DZHANNI Luka (IT),  
TOMAS Marlene (DE)

(73) Proprietor(s):

F.KHOFFMANN-LYA ROSH AG (CH)

R U 2 6 9 2 7 7 3 C 2

(54) IDENTIFICATION OF PATIENTS IN NEED OF COMBINED THERAPY WITH PD-L1 INHIBITOR

(57) Abstract:

FIELD: pharmaceuticals.

SUBSTANCE: group of inventions relates to the chemical-pharmaceutical industry and is a method of determining the need of a cancer patient in a combined therapy using a PD-L1 inhibitor – programmed cell death ligand-1, wherein a therapy comprising a modulator of the HER2/neu (ErbB2) signalling pathway and a chemotherapeutic agent, or in which the patient is exposed to a therapy comprising a HER2/neu (ErbB2) signal path modulator and a chemotherapeutic agent; including steps of: measuring in vitro in a sample from the body of said patient levels of expression of the receptor estrogen (ER), PD-L1 and gamma-interferon

(IFN $\gamma$ ) and classifying said patient as in need of a combined therapy using a PD-L1 inhibitor, if ER-negative level of expression is established, increased level of expression of PD-L1 in comparison with threshold value PD-L1 and reduced level of IFN $\gamma$  expression in comparison with IFN $\gamma$  threshold value. Inventions also include use of Her2/neu (ErbB2) signalling pathway, PD-L1 inhibitor and chemotherapeutic agent, as well as a pharmaceutical composition containing said agents, in treating cancer, wherein for this cancer an ER-negative expression level, an increased level of PD-L1 expression as compared to a PD-L1 threshold value and a reduced level of IFN $\gamma$

expression in comparison with IFN $\gamma$  threshold value.

EFFECT: group of inventions enables to determine whether a patient requires a combined therapy using a

PD-L1 inhibitor and a modulator of the HER2/neu (ErbB2) signalling pathway for treating cancer.

25 cl, 19 dwg, 6 tbl, 1 ex

R U 2 6 9 2 7 7 3 C 2

R U 2 6 9 2 7 7 3 C 2

Настоящее изобретение относится к средствам и способам определения нуждается ли пациент в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1. Пациент рассматривается как нуждающийся в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, если *in vitro* в образце из организма пациента выявлен низкий уровень или 5 отсутствие экспрессии ER и повышенный по сравнению с контролем уровень экспрессии лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1). Пациента подвергают терапии, включающей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) (типа трастузумаба) и химиотерапевтическое средство (типа додетаксела), или такая терапия показана для 10 пациента. В настоящем описании представлены также средства и способы лечения рака у ракового больного, для которого показана терапия, включающей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) (типа трастузумаба) и химиотерапевтическое средство (типа додетаксела), где пациента можно подвергать совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1.

HER-семейство рецепторных тирозинкиназ является важными медиаторами роста, 15 дифференцировки и выживания клеток. Семейство рецепторов включает четыре различных представителя, включая рецептор эпидермального фактора роста (EGFR, ErbB1 или HER1), HER2 (ErbB2 или p185<sup>neu</sup>), HER3 (ErbB3) и HER4 (ErbB4 или tyro2).

EGFR, кодируемый геном erbB1, является этиологическим фактором злокачественных 20 заболеваний человека. В частности, повышенная экспрессия EGFR обнаружена при раке молочной железы, мочевого пузыря, легкого, головы, шеи и желудка, а также глиобластомах. Повышенная экспрессия EGFR-рецептора часто ассоциирована с 25 повышенным производством лиганда EGFR, такого как трансформирующий фактор роста-альфа (TGF- $\alpha$ ), одними и теми же опухолевыми клетками, что приводит к активации рецептора с помощью аутокринного пути стимуляции (Baselga и Mendelsohn, Pharmac. Ther., 64, 1994, сс. 127-154). Моноклональные антитела, направленные против EGFR или его лигандов, т.е. TGF- $\alpha$  и EGF, были исследованы в качестве терапевтических 30 средств, предназначенных для лечения указанных злокачественных заболеваний (см., например, Baselga и Mendelsohn., выше; Masui и др., Cancer Research, 44, 1984, сс. 1002-1007 и Wu и др., J. Clin. Invest., 95, 1995, сс. 1897-1905).

Второй представитель семейства HER, p185<sup>neu</sup>, впервые был идентифицирован как 35 продукт трансформирующего гена из нейробластом обработанных химическими средствами крыс. Активированная формаprotoонкогена neu является результатом точечной мутации (замена валина на глутаминовую кислоту) в трансмембранный области кодируемого белка. Амплификация человеческого гомолога neu обнаружена при раке молочной железы и яичника и коррелирует с плохим прогнозом (Slamon и др., Science, 235, 1987, сс. 177-182; Slamon и др., Science, 244, 1989, сс. 707-712 и US №4968603). К настоящему времени в человеческих опухолях не описаны никакие аналоги точкой 40 мутации, приводящие к появлениюprotoонкогена neu. Сверхэкспрессия HER2 (часто, но не всегда, обусловленная амплификацией гена) обнаружена также при других карциномах, включая карциномы желудка, эндометрия, слюнной железы легкого, почки, ободочной кишки, щитовидной железы, поджелудочной железы и мочевого пузыря (см. среди прочего King и др., Science, 229, 1985, с. 974; Yokota и др., Lancet, 1, 1986, сс. 765-767; Fukushige и др., Mol Cell Biol., 6, 1986, сс. 955-958; Guerin и др., Oncogene Res., 3, 1988, сс. 21-31; Cohen и др., Oncogene, 4, 1989, сс. 81-88; Yonemura и др., Cancer Res., 51, 1991, с. 1034; Borst и др., Gynecol. Oncol., 38, 1990, с. 364; Weiner и др., Cancer Res., 50, 1990, сс. 421-425; Kern и др., Cancer Res., 50, 1990, с. 5184; Park и др., Cancer Res., 49, 1989, с. 6605; Zhau и др., Mol. Carcinog., 3, 1990, сс. 254-257; Aasland и др., Br. J. Cancer 57, 1988, сс. 358-363; Williams и др., Pathobiology, 59, 1991, сс. 46-52 и McCann и др., Cancer, 65,

1990, сс. 88-89). Может иметь место сверхэкспрессия HER2 при раке предстательной железы (Gu и др., Cancer Lett., 99, 1996, сс. 185-189; Ross и др., Hum. Pathol. 28, 1997, сс. 827-833; Ross и др., Cancer, 79, 1997, сс. 2162-2170 и Sadasivan и др., J. Urol., 150, 1993, сс. 126-131).

5 Описаны антитела, направленные против белковых продуктов крысиного p185<sup>neu</sup> и человеческого HER2. Drebin с коллегами получили антитела к продукту крысиного гена neu, p185<sup>neu</sup> (см., например, Drebin и др., Cell, 41, 1985, сс. 695-706; Myers и др., Meth. Enzym., 198, 1991, сс. 277-290 и WO 94/22478). У Drebin и др., Oncogene, 2, 1988, сс. 273-277 описано, что смеси антител, дающие реакцию с двумя различными областями p185<sup>neu</sup>, обладают синергетическим противоопухолевым действием в отношении трансформированных neu клеток линии NIH-3T3, имплантированных бестимусным мышам (см., также US 5824311, выданный 20 октября 1998 г.)

10 У Hudziak и др., Mol. Cell. Biol., 9(3), 1989, сс. 1165-1172 описано создание панели антител к HER2, которые характеризовали с использованием человеческих клеток опухоли молочной железы линии SK-BR-3. Относительную пролиферацию SK-BR-3-клеток после воздействия антител определяли путем окрашивания монослоев кристаллическим фиолетовым через 72 ч. С помощью такого анализа установлено, что максимальное ингибирование имело место при применении антитела, обозначенного 15 как 4D5, которое ингибировало клеточную пролиферацию на 56%. В этом анализе другие антитела из этой панели снижали клеточную пролиферацию в меньшей степени. Установлено также, что антитело 4D5 повышало чувствительность 20 опухолей молочной железы к цитотоксическим действиям TNF- $\alpha$  (см. также US №5,677,171 выданный 14 октября 1997 г.). Антитела к HER2, которые описаны у Hudziak с соавторами, дополнительно 25 охарактеризованы у Fendly и др., Cancer Research, 50, 1990, сс. 1550-1558; Kotts и др., In Vitro, 26(3), 1990, с. 59A; Sarup и др., Growth Regulation, 1, 1991, сс. 72-82; Shepard и др., J. Clin. Immunol., 11(3), 1991, сс. 117-127; Kumar и др., Mol. Cell. Biol., 11(2), 1991, сс. 979-986; Lewis и др., Cancer Immunol. Immunother., 37, 1991, сс. 255-263; Pietras и др., Oncogene, 30 9, 1991, сс. 1829-1838; Vitetta и др., Cancer Research, 54, 1991, сс. 5301-5309; Sliwkowski и др., J. Biol. Chem., 269(20), 1991, сс. 14661-14665; Scott и др., J. Biol. Chem., 266, 1991, сс. 14300-14305; D'souzan др., Proc. Natl. Acad. Sci., 91, 1991, сс. 7202-7206; Lewis и др., Cancer Research, 56, 1996, сс. 1457-1465 и Schaefer и др., Oncogene, 15, 1997, сс. 1385-1394).

35 Для рекомбинантной гуманизированной версии мышного антитела к HER2 4D5 (huMAb4D5-8, rhuMAb HER2, трастузумаб или Herceptin<sup>TM</sup>; US 5821337) была выявлена клиническая активность в отношении пациентов со сверхэкспрессирующими HER2 метастатическим раком молочной железы, которые получали экстенсивную 40 противораковую терапию (Baselga и др., J. Clin. Oncol., 14, 1996, сс. 737-744). В сентябре 1998 г. Департамент по контролю за качеством пищевых продуктов, медикаментов и косметических средств одобрил продажу трастузумаба для лечения пациентов с метастатическим раком молочной железы в тех случаях, когда в опухолях имеет место сверхэкспрессия белка HER2.

45 Гуманизированные антитела к ErbB2 включают huMAb4D5-1, huMAb4D5-2, huMAb4D5-3, huMAb4D5-4, huMAb4D5-5, huMAb4D5-6, huMAb4D5-7 и huMAb4D5-8 (HERCEPTIN<sup>®</sup>), которые описаны в таблице 3 в US 5821337, который специально включен в настоящее описание в качестве ссылки; гуманизированное антитело 520C9 (WO 93/21319) и гуманизированные антитела 2C4, описанные в WO 01/000245, которая специально включена в настоящее описание в качестве ссылки.

Пертузумаб (см., например, WO 01/000245) является первым из нового класса агентов, известных как ингибиторы димеризации HER (HDI). Пертузумаб связывается с HER2 в его домене димеризации, ингибируя тем самым его способность образовывать активные димерные рецепторные комплексы и блокируя таким образом последующий каскад передачи сигналов, который в конце концов приводит к росту и делению клеток (см. Franklin M.C., *Cancer Cell*, 5, 2004, сс. 317-328). Пертузумаб представляет собой полностью гуманизированное рекомбинантное моноклональное антитело, направленное против внеклеточного домена HER2. Связывание пертузумаба с HER2 на человеческих эпителиальных клетках мешает HER2 образовывать комплексы с другими 5 представителями семейства HER (включая EGFR, HER3, HER4) и вероятно также препятствует гомодимеризации HER2. Путем блокады образования комплексов пертузумаб предупреждает стимулирующие рост действия и сигналы выживания клеток, которые активируются лигандами HER1, HER3 и HER4 (например, EGF, TGF-альфа, амфирегулин и херегулины). Другим названием пертузумаба является 2C4. Пертузумаб 10 представляет собой полностью гуманизированное рекомбинантное моноклональное антитело на основе каркасных последовательностей человеческого IgG1(K). Структура пертузумаба состоит из двух тяжелых цепей (449 остатков) и двух легких цепей (214 остатков). От трастузумаба (Herceptin®) пертузумаб отличается 12 аминокислотами в 15 легкой цепи и 29 аминокислотами в тяжелой цепи IgG1.

20 Другие антитела к HER2 с различными свойствами описаны у Tagliabue и др., *Int. J. Cancer*, 47, 1991, сс. 933-937; McKenzie и др., *Oncogene*, 4, 1989, сс. 543-548; Maier и др., *Cancer Res.*, 51, 1991, сс. 5361-5369; Bacus и др., *Molecular Carcinogenesis*, 3, 1990, сс. 350-362; Stancovski и др., *PNAS (USA)*, 88, 1991, сс. 8691-8695; Bacus и др., *Cancer Research*, 52, 1992, сс. 2580-2589; Xu и др., *Int. J. Cancer*, 53, 1993, сс. 401-408; WO 94/00136; Kasprzyk и 25 др., *Cancer Research*, 52, 1992, сс. 2771-2776; Hancock и др., *Cancer Res.*, 51, 1991, сс. 4575-4580; Shawver и др., *Cancer Res.*, 54, 1994, сс. 1367-1373; Arteaga и др., *Cancer Res.*, 54, 1994, сс. 3758-3765; Harwerth и др., *J. Biol. Chem.*, 267, 1992, сс. 15160-15167; US №5783186 и Klapper и др., *Oncogene*, 14, 1997, сс. 2099-2109.

Скрининг на основе гомологии привел к идентификации двух других представителей 30 семейства рецепторов HER: HER3 (US 5183884 и 5480968, а также Kraus и др., *PNAS (USA)*, 86, 1989, сс. 9193-9197) и HER4 (заявка на европейский патент №599274; Plowman и др., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 1993, сс. 1746-1750 и Plowman и др., *Nature*, 366, 1993, сс. 473-475). Для обоих указанных рецепторов обнаружена повышенная экспрессия по меньшей мере в некоторых клеточных линиях рака молочной железы.

35 Рецепторы HER, как правило, встречаются в различных комбинациях в клетках и гетеродимеризация, вероятно, приводит к увеличению разнообразия клеточных ответов на различные лиганды HER (Earp и др., *Breast Cancer Research and Treatment*, 35, 1995, сс. 115-132). EGFR связывается шестью различными лигандами: эпидермальным фактором роста (EGF), трансформирующим фактором роста-альфа (TGF- $\alpha$ ), амфирегулином, 40 гепаринсвязывающим эпидермальным фактором роста (HB-EGF), бетацеллулином и эпирегулином (Groenen и др., *Growth Factors*, 11, 1994, сс. 235-257). Белки семейства херегулинов, образующиеся в результате альтернативного сплайсинга одного гена, являются лигандами для HER3 и HER4. Семейство херегулинов включает альфа-, бета и гамма-херегулины (Holmes и др., *Science*, 256, 1992, сс. 1205-1210; US 5641869 и Schaefer 45 и др., *Oncogene*, 15, 1997, сс. 1385-1394); neu-факторы дифференцировки (NDF), глиальные факторы роста (GGF); факторы, индуцирующие активность ацетилхолинового рецептора (ARIA), и фактор, выведенный из сенсорных и моторных нейронов (SMDF) (см. обзор у Groenen и др., *Growth Factors* 11, 1994, сс. 235-257; Lemke G. *Molec. & Cell. Neurosci.* 7,

1996, сс. 247-262 и Lee и др., *Pharm. Rev.*, 47, 1995, сс. 51-85). В последние годы идентифицировано три дополнительных лиганда HER: нейрорегулин-2 (NRG-2), который, как описано, связывается либо с HER3, либо с HER4 (Chang и др., *Nature*, 387, 1997, сс. 509-512 и Carraway и др., *Nature*, 387, 1997, сс. 512-516); нейрорегулин-3, который связывается с HER4 (Zhang и др., *PNAS (USA)*, 94(18), 1997, сс. 9562-9567); и нейрорегулин-4, который связывается с HER4 (Harari и др., *Oncogene*, 18, 1999, сс. 2681-2689), HB-EGF, бетацеллulin и эпирегулин также связываются с HER4.

Хотя EGF и TGF $\alpha$  не связываются с HER2, EGF стимулирует образование гетеродимера EGFR и HER2, который активирует EGFR и приводит к трансфосфорилированию HER2 в гетеродимере. Димеризация и/или трансфосфорилирование, вероятно, активируют тирозинкиназу HER2 (см. Eargr и др., выше). Аналогично этому, при совместной экспрессии HER3 с HER2 образуется активный передающий сигналы комплекс, и антитела, направленные против HER2, обладают способностью разрушать этот комплекс (Sliwkowski и др., *J. Biol. Chem.*, 269(20), 1994, сс. 14661-14665). Кроме того, аффинность HER3 к херегулину (HRG) возрастает до более высокого уровня аффинности при его совместной экспрессии с HER2 (см. также Levi и др., *Journal of Neuroscience* 15 1995 сс. 1329-1340; Morrissey и др., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92, 1995, сс. 1431-1435 и Lewis и др., *Cancer Res.*, 56, 1996, сс. 1457-1465 данные, касающиеся белкового комплекса HER2-HER3). HER4, аналогично HER3, образует активный передающий сигналы комплекс с HER2 (Carraway и Cantley, *Cell*, 78, 1994, сс. 5-8).

В данной области описаны также композиции вариантов антител. В US №6339142 описана композиция антител к HER2, содержащая смесь антитела к HER2 и один или несколько его кислотных вариантов, в которой количество кислотного(ых) варианта (ов) ниже, чем примерно 25%. Трастузумаб является примером антитела к HER2. Reid с соавторами в постере «Effects of Cell Culture Process Changes on Humanized Antibody Characteristics), представленном на конференции Well Characterized Biotech Pharmaceuticals (январь, 2003 г.), описали не имеющую названия композицию гуманизированного антитела в виде IgG1 с N-концевыми гетерогеностями в результате комбинаций с сигнальным пептидом VHS, N-концевым глутамином и пироглутаминовой кислотой на его тяжелой цепи. Harris с соавторами в докладе «The Ideal Chromatographic Antibody Characterization Method), представленном на конференции IBC Antibody Production (февраль 2002 г.) описали VHS-удлинение на тяжелой цепи E25, гуманизированного антитела к IgE. Rouse с соавторами в постере, представленном на конференции WCBP «Glycoprotein Characterization by High Resolution Mass Spectrometry and Its Application to Biopharmaceutical Development) (6-9 января 2004 г.), описали композицию моноклонального антитела с N-концевой гетерогенностью в результате присоединения сигнального пептида AHS или HS к его легкой цепи. В частности, на конференции IBC (сентябрь 2000 г.) «Strategic Use of Comparability Studies and Assays for Well Characterized Biologicals» Jill Porter представил полученную в результате последней элюции форму ZENAPAX<sup>TM</sup> с тремя дополнительными аминокислотными остатками на тяжелой цепи. В US 2006/0018899 описана композиция, содержащая основную форму антитела пертузумаб и его вариант с удлинением на аминоконце с помощью лидерной последовательности, а также другие варианты антитела пертузумаб.

Относящиеся к антителам к HER патентные публикации включают: US 5677171, US 5720937, US 5720954, US 5725856, US 5770195, US 5772997, US 6165464, US 6387371, US 6399063, US 2002/0192211 A1, US 6015567, US, 333169, US 4968603, US 5821337, US 6054297, US 6407213, US 6719971, US 6800738, US 2004/0236078 A1, US 5648237, US 6267958, US 6685940, US 6821515, WO 98/17797, US 6127526, US 6333398, US 6797814, US

6339142, US 6417335, US 6489447, WO 99/31140, US 2003/0147884 A1, US 2003/0170234 A1, US 2005/0002928 A1, US 6573043, US 2003/0152987 A1, WO 99/48527, US 2002/0141993 A1, WO 01/00245, US 2003/0086924, US 2004/0013667 A1, WO 00/69460, WO 01/00238, WO 01/15730, US 6627196B1, US 6632979B1, WO 01/00244, US 2002/0090662 A1, WO 01/89566, 5 US 2002/0064785, US 2003/0134344, WO 04/24866, US 2004/0082047, US 2003/0175845 A1, WO 03/087131, US 2003/0228663, WO 2004/008099A2, US 2004/0106161, WO 2004/048525, US 2004/0258685 A1, US 5985553, US 5747261, US 4935341, US 5401638, US 5604107, WO 10 87/07646, WO 89/10412, WO 91/05264, EP 412116 B1, EP 494135 B1, US 5824311, EP 444181 B1, EP 1006194 A2, US 2002/0155527 A1, WO 91/02062, US 5571894, US 5939531, EP 502812 B1, WO 93/03741, EP 554441 B1, EP 656367 A1, US 5288477, US 5514554, US 5587458, WO 93/12220, WO 93/16185, US 5877305, WO 93/21319, WO 93/21232, US 5,856,089, WO 94/ 22478, US 5,910,486, US 6028059, WO 96/07321, US 5804396, US 5846749, EP 711565, WO 96/16673, US 5783404, US 5977322, US 6512097, WO 97/00271, US 6270765, US 6395272, US 5837243, WO 96/40789, US 5783186, US 6458356, WO 97/20858, WO 97/38731, US 15 6214388, US 5925519, WO 98/02463, US 5922845, WO 98/18489, WO 98/33914, US 5994071, WO 98/45479, US 6358682 B1, US 2003/0059790, WO 99/55367, WO 01/20033, US 2002/ 0076695 A1, WO 00/78347, WO 01/09187, WO 01/21192, WO 01/32155, WO 01/53354, WO 01/56604, WO 01/76630, WO 02/05791, WO 02/11677, US 6582919, US 2002/0192652 A1, US 2003/0211530 A1, WO 02/44413, US 2002/0142328, US 6602670 B2, WO 02/45653, WO 02/ 20 055106, US 2003/0152572, US 2003/0165840, WO 02/087619, WO 03/006509, WO 03/012072, WO 03/028638, US 2003/0068318, WO 03/041736, EP 1357132, US 2003/0202973, US 2004/ 0138160, US 5705157, US 6123939, EP 616,812 B1, US 2003/0103973, US 2003/0108545, US 6403630 B1, WO 00/61145, WO 00/61185, US 6333348 B1, WO 01/05425, WO 01/64246, US 2003/0022918, US 2002/0051785 A1, US 6767541, WO 01/76586, US 2003/0144252, WO 01/ 25 87336, US 2002/0031515 A1, WO 01/87334, WO 02/05791, WO 02/09754, US 2003/0157097, US 2002/0076408, WO 02/055106, WO 02/070008, WO 02/089842 и WO 03/86467.

Пациентов для лечения антителом к HER2 трастузумабом/Herceptin™ выбирают для терапии на основе сверхэкспрессии белка HER2/амплификации гена, см., например, WO 99/31140 (Paton и др.,), US 2003/0170234A1 (на имя Hellmann S.) и US 2003/0147884 (на 30 имя Paton и др.,); а также WO 01/89566, US 2002/0064785 и US 2003/0134344 (Mass и др.) (см. также US 2003/0152987 на имя Cohen и др., касательно применения иммуногистохимии (ИГХ) и флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) для выявления сверхэкспрессии и амплификации HER2. WO 2004/053497 и US 2004/024815 A1 (на имя Bacus и др.), а также в US 2003/0190689 (на имя Crosby и Smith) касаются определения 35 или прогнозирования ответа на терапию на основе трастузумаба. US 2004/013297 A1 (на имя Bacus и др.) касается определения или прогнозирования ответа на терапию на основе антитела к EGFR ABX0303. В WO 2004/000094 (на имя Bacus и др.) описано определение ответа на GW 572016, малую молекулу, которая является ингибитором тирозинкиназы EGFR-HER2. WO 2004/063709 на имя Amler и др. касается биомеркеров 40 и методов определения чувствительности к ингибитору EGFR, такому как **эрлотиниб·НСI**. US 2004/0209290 на имя Cobleigh и др. касается экспрессии генных маркеров для прогнозирования рака молочной железы.

Пациентов, подлежащих лечению с помощью ингибитора димеризации HER2 (типа 45 пертузумаба, который описан более подробно выше), можно отбирать для терапии на основе активации или димеризации HER. Патентные публикации, касающиеся пертузумаба и отбора пациентов для терапии на его основе, включают: WO 01/00245 (Adams и др.); US 2003/0086924 (Sliwkowski M.); US 2004/0013667 A1 (Sliwkowski M.), а также WO 2004/008099 A2 и US 2004/0106161 (на имя Bossenmaier и др.).

Herceptin™/трастузумаб известны в данной области для лечения пациентов с метастатическим раком молочной железы, опухоли которых характеризуются сверхэкспрессией белка HER2 или присутствием амплификации гена HER2:

а) в качестве монотерапии для лечения указанных пациентов, которых подвергали

5 по меньшей мере двум химиотерапевтическим схемам лечения их метастатического заболевания. Предшествующая химиотерапия должна была включать по меньшей мере антрациклины и таксаны, если для пациентов такие варианты лечения не являются неприемлемыми. Пациенты с позитивным по рецепторам гормонов статусом должны получать также гормональную терапию, если для пациентов такие варианты лечения

10 не являются неприемлемыми;

б) в сочетании с паклитакселом для лечения пациентов, которых не подвергали химиотерапии для лечения у них метастатического заболевания и для которых антрациклин не является приемлемым; и

в) в сочетании с доцетакселом для лечения пациентов, которых не подвергали

15 химиотерапии для лечения у них метастатического заболевания.

Herceptin™/трастузумаб можно применять также в качестве адъювантной терапии на ранней стадии рака молочной железы. Herceptin™/трастузумаб разрешен также для лечения пациентов с HER2-позитивным раком молочной железы на ранней стадии после хирургического вмешательства, химиотерапии (неоадъювантной (т.е. до хирургии) или

20 адъювантной) и лучевой терапии (если это можно применять). Кроме того, Herceptin™ в сочетании с капцитабином или 5-фторурацилом и цисплатином показан для лечения пациентов с HER2-позитивной местно-распространенной или метастатической аденокарциномой желудка или гастроэзофагеального соединения, которых ранее не подвергали противораковому лечению по поводу их метастатического заболевания.

25 Эффективность и безопасность неоадъювантной терапии на основе пертузумаба и трастузумаба оценивали на фазе 2 испытания (NEOSPHERE); Gianni, Lancet Oncol, 13, 2012, с. 25-32.

В данной области лечение пациентов с раком молочной железы с помощью

Herceptin™/трастузумаба, например, рекомендовано и является общепринятым для 30 пациентов с HER2-позитивным раком. Считается, что рак является HER2-позитивным, если в образцах, полученных из организма пациента, таких как биопсии ткани молочной железы или резекции ткани молочной железы, или ткани, полученной из областей метастазов, обнаружен высокий уровень экспрессии HER2 (белка) с помощью иммуногистохимических методов (например, HER2 (+++)) или обнаружена амплификация 35 гена HER2 с помощью in-situ-гибридизации (ISH) (например, ISH-позитивный статус, например, когда количество копий гена HER2 превышает 4 копии гена HER2 на опухолевую клетку, или в том случае, когда соотношение количества копий гена HER2 и количества сигналов зонда CEP17  $\geq 2,0$ ), или обнаружено и то, и другое.

В WO 2011/109789, WO 2011/066342, WO 2009/089149 и WO 2006/133396 описано

40 терапевтическое применение ингибиторов PD-L1. Кроме того, в WO 2010/077634 описаны антитела к PD-L1 и их терапевтическое применение.

Настоящее изобретение относится к способу определения потребности ракового пациента в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, (I) где терапия, включающая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и

45 химиотерапевтическое средство, показана для пациента, или (II) где пациента подвергают терапии, включающей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, заключающемуся в том, что осуществляют стадии, на которых

а) измеряют *in vitro* в образце из организма указанного пациента уровень экспрессии рецептора эстрогена (ER) и лиганда программиrowанной клеточной гибели-1 (PD-L1),  
 б) классифицируют пациента как нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, если измеренные на стадии (а) уровень экспрессии ER является низким или отсутствует и уровень экспрессии лиганда программиrowанной клеточной гибели-1 (PD-L1) является повышенным по сравнению с контролем.

Таким образом, в настоящем изобретении предложен способ определения потребности пациента в совместной терапии с использованием модулятора PD-L1 в сочетании с модулятором пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и

10 химиотерапевтическим средством, заключающийся в том, что осуществляют стадии, на которых

-тестируют образец опухоли пациента, для которого показана терапия, включающая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, или которого подвергают указанной терапии;

15 - определяют уровень экспрессии рецептора эстрогена (ER) и лиганда программиrowанной клеточной гибели-1 (PD-L1) в указанном образце опухоли,

в котором низкий уровень экспрессии ER или его отсутствие и повышенный уровень экспрессии лиганда программиrowанной клеточной гибели-1 (PD-L1) по сравнению с контролем служит признаком того, что модулятор PD-L1 можно успешно применять

20 для совместной терапии указанного пациента.

Как продемонстрировано в прилагаемом примере, при создании изобретения неожиданно было установлено, что раковые пациенты, негативные по рецептору эстрогена (ER) (ER(-)-пациенты) (раковые пациенты с низким уровнем экспрессии ER или даже с ее отсутствием), подвергающиеся терапии с использованием модулятора

25 пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) (типа Herceptin<sup>TM</sup>/трастузумаба) и химиотерапевтического средства (типа додетаксела/Taxotere<sup>®</sup>), характеризуются существенно более плохим полным патологическим ответом (pCR) на терапию по сравнению с позитивными по рецептору эстрогена (ER) раковыми пациентами (ER(+)-пациенты), если уровень экспрессии лиганда программиrowанной клеточной гибели-1

30 (PD-L1) в образце ER-негативных (ER(-)) раковых пациентов повышен по сравнению с контролем.

Понятия «лиганд программиrowанной (клеточной) гибели-1», «CD274» и «PD-L1» в контексте настоящего описания используют взаимозаменямо. Таким образом, на ER-негативных (ER(-)) раковых пациентов с повышенным уровнем экспрессии лиганда

35 программиrowанной (клеточной) гибели-1 (PD-L1) по сравнению с контролем должна оказывать благоприятное действие дополнительная совместная терапия с использованием ингибитора PD-L1. Можно ожидать, что уровень полного патологического ответа (pCR) в этой группе пациентов должен возрастать, если пациентов подвергают совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1 в

40 дополнение к терапии на основе модулятора пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) (типа Herceptin<sup>TM</sup>/трастузумаба) и химиотерапевтического средства (типа додетаксела/Taxotere<sup>®</sup>). Другими словами, ER-негативные (ER(-)) раковые пациенты должны получать ингибитор лиганда программиrowанной клеточной гибели-1 (PD-L1) в дополнение к модулятору пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) (типа трастузумаба) и

45 химиотерапевтическому средству (типа додетаксела/Taxotere<sup>®</sup>), если уровень экспрессии лиганда программиrowанной клеточной гибели-1 (PD-L1) в образце из организма пациента повышен по сравнению с контролем. Ниже ER-негативных раковых пациентов или (биологические образцы/образцы опухоли), полученные из организма ER-негативных

раковых пациентов, обозначают в контексте настоящего описания как «ER(-)». Аналогично этому ER-позитивных раковых пациентов или (биологические образцы/образцы опухоли), полученные из организма ER-позитивных раковых пациентов, обозначают в контексте настоящего описания как «ER(+).».

- 5 Согласно вышесказанному, настоящее изобретение относится к способу лечения рака у ракового пациента, которому показана терапия, включающая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, заключающемуся в том, что отбирают ракового пациента, для которого установлено, что рак отличается низким уровнем или отсутствием экспрессии ER и отличается повышенным уровнем
- 10 экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1) по сравнению с контролем, и вводят пациенту в эффективном количестве модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), химиотерапевтическое средство и ингибитор лиганда программирующей клеточной гибели-1. Кроме того, настоящее изобретение относится к способу лечения рака у ракового пациента, которого подвергают терапии,
- 15 включающей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, заключающемуся в том, что отбирают ракового пациента, для которого установлено, что рак отличается низким уровнем или отсутствием экспрессии ER и отличается повышенным уровнем экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1) по сравнению с контролем, и вводят
- 20 пациенту в эффективном количестве ингибитор лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1). Таким образом, настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и ингибитор лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1), которая предназначена для лечения рака, где, как установлено, рак отличается низким уровнем
- 25 или отсутствием экспрессии ER и отличается повышенным уровнем экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1) по сравнению с контролем.

Согласно вышесказанному, предложенный в настоящем описании способ определения потребности ракового пациента в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1 может включать дополнительную стадию перед стадией а), где указанная стадия 30 представляет собой или включает получение образца из организма указанного ракового пациента. Таким образом, в настоящем изобретении предложен способ определения потребности ракового пациента в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, (I) где терапия, включающая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, показана для пациента, или (II) где пациента 35 подвергают терапии, включающей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, где указанный способ включает стадию получения образца из организма указанного пациента, способ заключается также в том, что осуществляют стадии, на которых

40 а) измеряют *in vitro* в образце из организма указанного пациента уровень экспрессии рецептора эстрогена (ER) и лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1),  
б) классифицируют пациента как нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, если измеренные на стадии (а) уровень экспрессии ER является низким или отсутствует и уровень экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1) является повышенным по сравнению с контролем.

45 Кроме того, при создании настоящего изобретения установлено и продемонстрировано в прилагаемом примере, что пациента, нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, можно определять еще более надежно, если измерять уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) в образце из организма

пациента помимо уровня экспрессии лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1). При создании изобретения установлено, что пациенты с низким уровнем или отсутствием экспрессии ER имеют существенно худший полный патологических ответ на терапию на основе модулятора пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и

5 химиотерапевтического средства, если уровень экспрессии лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) повышен и если уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) понижен.

Таким образом, способы, представленные в настоящем описании, дополнительно предусматривают измерение уровня экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) в образце

10 из организма пациента, при этом пациента классифицируют как нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, если уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) снижен по сравнению с контролем. Согласно вышесказанному, предпочтительным объектом настоящего изобретения является способ определения потребности ракового пациента в совместной терапии с

15 использованием ингибитора PD-L1, (I) где для пациента показана терапия, включающая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, или (II) где пациента подвергают терапии, включающей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, где указанный способ заключается в том, что осуществляют стадии, на которых

20 а) измеряют *in vitro* в образце из организма указанного пациента уровень экспрессии рецептора эстрогена (ER), лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) и уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ),

б) классифицируют пациента как нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, если измеренные на стадии (а) уровень экспрессии 25 ER является низким или отсутствует, уровень экспрессии лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) является повышенным по сравнению с контролем и уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) является пониженным по сравнению с контролем.

Таким образом, уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ), который снижен относительно контроля, служит признаком того, что модулятор PD-L1 можно успешно 30 применять для совместной терапии указанного пациента. С учетом вышесказанного представлена в настоящем описании фармацевтическая композиция предназначена для лечения рака, если установлено, что указанный рак отличается низким уровнем или отсутствием экспрессии ER, если установлено, что указанный рак отличается повышенным уровнем экспрессии лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1)

35 (PD-L1) по сравнению с контролем, и установлено, что рак отличается пониженным уровнем экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) по сравнению с контролем. Таким образом, представлена в настоящем описании фармацевтическая композиция, содержащая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и ингибитор лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1), показана для лечения рака, если

40 установлено, что указанный рак отличается низким уровнем или отсутствием экспрессии ER, если установлено, что указанный рак отличается повышенным уровнем экспрессии лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) по сравнению с контролем, и установлено, что рак отличается пониженным уровнем экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) по сравнению с контролем.

45 В контексте настоящего описания понятие «раковый пациент» относится к пациенту, который, как ожидается, может страдать раком, уже страдает раком или предрасположен к раку. Рак, подлежащий лечению согласно настоящего изобретению, может представлять собой солидный (трабекулярный) рак, такой как рак молочной железы

или рак желудка. Кроме того, рак может представлять собой рак яичника или колоректальный рак. Рак предпочтительно представляет собой «HER2-позитивный» рак.

Предпочтительно рак представляет собой рак молочной железы, типа раннего рака молочной железы. Рак молочной железы может представлять собой раннюю стадию рака молочной железы или метастатический рак молочной железы. Таким образом, подразумевается, что раковый пациент (подлежащий лечению) может страдать солидным раком, страдает солидным раком или предрасположен к солидному раку, где солидный рак может представлять собой рак молочной железы или рак желудка. Предпочтительно рак представляет собой рак молочной железы, типа ранней стадии рака молочной железы. Пациент предпочтительно представляет собой человека.

Как указано выше, уровень экспрессии рецептора эстрогена (ER) и лиганда программируемой клеточной гибели-1 (PD-L1) и необязательно интерферона-гамма (IFN- $\gamma$ ) можно измерять *in vitro* в образце из организма пациента. Предпочтительно представленные в настоящем описании способы включают измерение уровня интерферона-гамма (IFN- $\gamma$ ) *in vitro* в образце из организма пациента. Предпочтительно в контексте настоящего описания подлежащий оценке/анализу образец представляет собой образец опухолевой ткани. Пациента (или группу пациентов) классифицируют как нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, если уровень экспрессии ER является низким или отсутствует и уровень экспрессии лиганда программируемой клеточной гибели-1 (PD-L1) повышен по сравнению с контролем и необязательно уровень экспрессии интерферона гамма (IFN $\gamma$ ) понижен по сравнению с контролем, при измерении *in vitro* в указанном образце.

Понятие «ER» является сокращенным обозначением понятия «рецептор эстрогена». Аналогично этому, понятия «PD-L1» и «IFN- $\gamma$ » являются сокращенными обозначениями понятий «лиганд программируемой клеточной гибели» и «интерферон-гамма» соответственно. Таким образом, в контексте настоящего описания понятие «ER» можно применять взаимозаменяя с понятием «рецептор эстрогена». Аналогично этому, в контексте настоящего описания понятия «PD-L1» и «IFN- $\gamma$ » можно применять взаимозаменяя с понятиями «лиганд программируемой клеточной гибели» и «интерферон-гамма» соответственно.

Предпочтительно (опухолевый/биологический) образец из организма пациента и/или рака отличается или с ним ассоциирован низкий уровень или отсутствие экспрессии рецептора эстрогена (ER). Предпочтительно образец из организма пациента представляет собой образец опухоли. Уровень экспрессии ER может быть ER-негативным (ER(-)). Понятие «ER(-)» можно применять взаимозаменяя с понятием «ER-негативный».

ER-негативный» уровень экспрессии можно определять с помощью рутинных и стандартных процедур, описанных, например, в руководстве по тестированиям рецепторов гормонов при раке молочной железы (Guideline on Hormone Receptor Testing in Breast Cancer, S. Nofech-Mozes, E. Vella, S. Dhesy-Thind и W. Hanna (A Quality Initiative of the Program in Evidence-Based Care (PEBC), Cancer Care Ontario (CCO); дата отчета 8 апреля 2011 г.). Руководства и процитированные в них ссылки полностью включены в настоящее описание. Эти руководства доступны в Интернете на сайте [cancercare.on.ca](http://cancercare.on.ca)) и в PEBC Pathology & Laboratory Medicine page на:

45 <https://www.cancercare.on.ca/toolbox/qualityguidelines/clin-program/pathlabesbs/>  
рутинные и стандартные процедуры определения «ER-негативного» уровня экспрессии описаны в этих руководствах, а также в приведенных ниже ссылках:

Nofech-Mozes S., Vella E.T., Dhesy-Thind S., Hagerty K.L., Mangu P.B., Temin S., и др.,

Systematic review on hormone receptor testing in breast cancer. Applied Immunohistochem Mol Morphol. 20(3), май 2012 г., сс. 214-263. doi: 10.1097/PAI.0b013e318234aa12, Epub 11 ноября 2011 г.

Nofech-Mozes S., Vella E.T., Dhesy-Thind S., Hanna W.M. Cancer Care Ontario guideline

5 recommendations for hormone receptor testing in breast cancer. Clin Oncol (R Coll Radiol), Epub 17 мая 2012 г.

Экспрессия является «ER-негативной», если по данным, полученным, например, с помощью ИГХ (имmunогистохимия), уровень экспрессии ER является низким или она отсутствует и/или уровень экспрессии рецептора прогестерона (PR) является низким

10 или она отсутствует. Сокращение «PR» в контексте настоящего описания применяют взаимозаменяемо с понятием «рецептор прогестерона». В контексте настоящего описания образец или пациенты можно оценивать как «ER-негативные» согласно следующей картине окрашивания (по данным ИГХ):

Следует оценивать только окрашивание ядер (не цитоплазмы).

15 Окрашивание классифицируют на три категории:

Позитивное: окрашивание ER или PR  $\geq 10\%$ .

Слабое позитивное: окрашивание ER или PR - от 1% до 9%.

Негативное: окрашивание ER или PR  $< 1\%$ .

Таким образом, согласно настоящему описанию образец или пациенты могут 20 оцениваться, в частности, как «ER-негативные», если для образца обнаружена с помощью ИГХ следующая картина окрашивания: окрашивание ER или PR составляет  $< 1\%$ .

Согласно настоящему описанию образец или пациенты могут оцениваться, в частности, как «ER-позитивные», если для образца обнаружена «позитивная» картина окрашивания с помощью ИГХ: окрашивание ER или PR составляет  $\geq 1\%$  (т.е. более 25 одного процента 1% изученных/оцененных клеток имеют рецепторы эстрогена или рецепторы прогестерона/характеризуются окрашиванием по данным ИГХ (имmunогистохимия), свидетельствующим о присутствии рецепторов эстрогена.

Предпочтительно согласно настоящему описанию образец или пациенты оцениваются 30 как «ER-негативные», если для образца обнаружена следующая картина окрашивания с помощью ИГХ: окрашивание ER составляет  $< 1\%$  (т.е. менее 1% изученных/оцененных клеток имеют рецепторы эстрогена/характеризуются окрашиванием по данным ИГХ (имmunогистохимия), свидетельствующим о присутствии рецептора(ов) эстрогена. Более предпочтительно образец или пациенты рассматривается(ются) как «ER-негативные», если для ядер в образце опухолевой ткани с помощью ИГХ обнаружено окрашивание 35 ER, составляющее  $< 1\%$ . Таким образом, из трех представленных выше категорий оценка как «ER-негативный» базируется только на окрашивании ER с помощью ИГХ, составляющем  $< 1\%$ .

Аналогичным образом «ER-негативную» экспрессию можно определять другими 40 рутинными методами, применяемыми в данной области. Например, экспрессию можно рассматривать как «ER-негативную», если уровень экспрессии мРНК/РНК является низким или отсутствует. Рутинные методы, которые можно применять, включают (но, не ограничиваясь только ими): балльную шкалу Оллреда, IRS, балльную шкалу Реммеля или любой другой пригодный биохимический метод определения. Специалисту в данной области должно быть очевидно, что отсекающее значение для указанных методов 45 должно соответствовать отсекающему значению, определенному, как описано выше, с помощью ИГХ.

Нуклеотидные последовательности и аминокислотные последовательности рецептора прогестерона (PR), рецептора эстрогена (ER) лиганда программированной клеточной

гибели-1 (PD-L1) и/или интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ), которые можно применять в настоящем изобретении, хорошо известны и их можно найти в базах данных, таких как NCBI. Приведенные в качестве примера последовательности представлены в настоящем описании (см., например, SEQ ID NO: 38-51).

- 5 Методы и типы образцов, применяемые для установления отсекающего значения маркера (типа лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) и/или интерферона гамма (IFN- $\gamma$ )) и для оценки образца, полученного из организма индивидуума или пациента, подлежащего анализу, соответствуют друг другу или являются одинаковыми. Отсекающие значения, т.е. значения, выше которых признается
- 10 наличие сверхэкспрессии (например, повышенной экспрессии лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) по сравнению с контролем), можно получать с использованием контрольной группы. Отсекающие значения, т.е. значения, ниже которых признается наличие пониженной экспрессии (например, пониженной экспрессии интерферона-гамма (IFN- $\gamma$ ) по сравнению с контролем), можно получать с
- 15 использованием контрольной группы.

Контрольную группу, в которой получают отсекающие значения, выбирают так, чтобы она соответствовала группе подлежащих исследованию индивидуумов/пациентов, другими словами, если способ, предлагаемый в изобретении, применяют для определения потребности в совместной терапии с использованием PD-L1 у пациентов с раком молочной железы или раком желудка соответственно, то контрольная группа также включает пациентов с раком молочной железы или раком желудка соответственно. Контрольная группа, которую применяют для определения отсекающих значений и для PDL-1, и для IFN- $\gamma$  соответственно, содержит по меньшей мере 40 или по меньшей мере 50, или по меньшей мере 100 индивидуумов/пациентов. Уровень экспрессии или 25 соответствующее значение, превышающее отсекающее, рассматриваются как соответствующие сверхэкспрессии, а значение на уровне или ниже отсекающего рассматривается как соответствующее пониженной экспрессии.

В одном из вариантов осуществления изобретения уровень экспрессии «IFN- $\gamma$ » в образце опухолевой ткани индивидуума/пациента сравнивают с отсекающим значением.

30 Значение, превышающее отсекающее, рассматривается как соответствующее сверхэкспрессии IFN- $\gamma$ , а значение на уровне или ниже отсекающего рассматривается как соответствующее пониженной экспрессии IFN- $\gamma$ . В одном из вариантов осуществления изобретения признается наличие пониженной экспрессии, если уровень экспрессии IFN- $\gamma$  находится на уровне или является более низким, чем наивысший

35 квинтиль, квартиль или тертиль соответственно, установленный для контрольной группы. В одном из вариантов осуществления изобретения отсекающее значение для IFN- $\gamma$  представляет собой наивысший тертиль. В одном из вариантов осуществления изобретения отсекающее значение представляет собой значение между 70-ым и 80-ым перцентилем. В одном из вариантов осуществления изобретения отсекающее значение 40 для IFN- $\gamma$  представляет собой 73-ий перцентиль, т.е. значение, превышающее указанное отсекающее значение, рассматривается как соответствующее сверхэкспрессии IFN- $\gamma$ , а значение равное или более низкое, чем 73-ий перцентиль, рассматривается как 45 соответствующее пониженному уровню экспрессии IFN- $\gamma$ . В одном из вариантов осуществления изобретения индивидуумов/пациентов классифицируют как нуждающихся в совместной терапии с использованием PD-L1, если экспрессия IFN- $\gamma$  в образце (таком как образец опухолевой ткани) снижена (т.е. ниже или находится на уровне отсекающего значения для IFN- $\gamma$ ). В одном из вариантов осуществления изобретения индивидуумов/пациентов классифицируют как не нуждающихся в совместной терапии с использованием

PD-L1, если имеет место сверхэкспрессия IFN- $\gamma$  (т.е. превышает указанное выше отсекающее значение для IFN- $\gamma$ ).

В одном из вариантов осуществления изобретения уровень экспрессии PD-L1 в образце опухолевой ткани индивидуума/пациента сравнивают с отсекающим значением.

- 5 Значение, превышающее отсекающее, рассматривается как соответствующее сверхэкспрессии PD-L1, а значение на таком же уровне или более низкое, чем отсекающее, рассматривается как соответствующее пониженной экспрессии PD-L1. В одном из вариантов осуществления изобретения признается наличие сверхэкспрессии PDL-1, если уровень экспрессии PDL-1 превышает отсекающее значение, находящееся 10 между 50-ым перцентилем и 75-ым перцентилем, установленным для контрольной группы. В одном из вариантов осуществления изобретения признается наличие сверхэкспрессии PDL-1, если уровень экспрессии PDL-1 превышает отсекающее значение, находящееся между 50-ым перцентилем и 70-ым перцентилем, установленным для контрольной группы. В одном из вариантов осуществления изобретения индивидуумы/ 15 пациенты классифицируются как нуждающиеся в совместной терапии с использованием PDL-1, если имеет место сверхэкспрессия PDL-1 (т.е. выявленный уровень экспрессии PDL-1 превышает отсекающее значение для PDL-1).

- 20 В одном из дополнительных вариантов осуществления изобретения сверхэкспрессия PDL-1 обнаружена в подгруппе индивидуумов/пациентов, имеющих пониженный уровень экспрессии IFN- $\gamma$  в образце опухолевой ткани. В одном из вариантов осуществления изобретения признается наличие сверхэкспрессии PDL-1, если уровень экспрессии PDL-1 превышает отсекающее значение, находящееся между 40-ым перцентилем и 65-ым перцентилем, установленным для этой подгруппы. В одном из вариантов осуществления изобретения признается наличие сверхэкспрессии PDL-1, если уровень экспрессии PDL-1 25 превышает отсекающее значение, находящееся между 50-ым перцентилем и 60-ым перцентилем, установленным для этой подгруппы. В одном из вариантов осуществления изобретения индивидуумы/пациенты классифицируются как нуждающиеся в совместной терапии с использованием PDL-1, если уровень экспрессии PDL-1 в подгруппе с пониженным уровнем экспрессии IFN- $\gamma$  превышает 54-ый перцентиль.

- 30 В одном из вариантов осуществления изобретения индивидуумы/пациенты классифицируются как нуждающиеся в совместной терапии с использованием PDL-1, если уровень экспрессии IFN- $\gamma$  в образце опухолевой ткани понижен (т.е. ниже или находится на уровне отсекающего значения для IFN- $\gamma$ ), а уровень экспрессии PDL-1 повышен (т.е. превышает отсекающее значение для PDL-1).

- 35 Понятие «уровень экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1), повышенный по сравнению с контролем» в контексте настоящего описания можно применять взаимозаменяя с понятием «уровень экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1), превышающий отсекающее значение для PDL-1», что определено и объяснено выше.

- 40 Понятие «уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ), пониженный по сравнению с контролем» в контексте настоящего описания можно применять взаимозаменяя с понятием «уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ), более низкий, чем отсекающее значение для IFN $\gamma$ , или равный ему».

Под объем настоящего изобретения подпадают следующие объекты.

- 45 Настоящее изобретение относится к способу определения потребности ракового пациента в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, (I) в котором пациенту показана терапия, включающая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство или (II) в котором пациента подвергают

терапии, включающей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, заключающийся в том, что осуществляют стадии, на которых

5 а) измеряют *in vitro* в образце из организма указанного пациента уровень экспрессии рецептора эстрогена (ER), лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1) и уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ),

б) классифицируют пациента как нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, если измеренный на стадии (а) уровень экспрессии ER является низким или она отсутствует (например, является ER(-)/ER-негативным),  
10 уровень экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1) превышает отсекающее значение для PD-L1 и уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) является более низким, чем отсекающее значение для IFN $\gamma$ , или равным ему.

Настоящее изобретение относится к способу лечения рака у ракового пациента, которому показана терапия, включающая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, заключающемуся в том, что отбирают ракового пациента, для рака которого установлен низкий уровень экспрессии ER или выявлено ее отсутствие (например, ER(-)/ER-негативный) и установлен уровень экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1), превышающий отсекающее значение для PD-L1, и установлен уровень экспрессии интерферона-гамма 20 (IFN $\gamma$ ) более низкий, чем отсекающее значение для IFN $\gamma$ , или равный ему, и вводят пациенту в эффективном количестве модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), химиотерапевтическое средство и ингибитор лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1).

Настоящее изобретение относится к способу лечения рака у ракового пациента, 25 которого подвергают терапии, включающей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, заключающемуся в том, что отбирают ракового пациента, для рака которого установлен низкий уровень экспрессии ER или выявлено его отсутствие (например, ER(-)/ER-негативный) и установлен уровень экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1), превышающий 30 отсекающее значение для PD-L1, и установлен уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) более низкий, чем отсекающее значение для IFN $\gamma$  или равный ему, и вводят пациенту в эффективном количестве ингибитор лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1).

Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей 35 модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и ингибитор лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1), предназначенной для лечения рака, для которого установлено, что рак отличается низким уровнем экспрессии ER или ее отсутствием (например, ER(-)/ER-негативный) и отличается уровнем экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1), превышающим отсекающее значение 40 для PD-L1, и отличается уровнем экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) более низким, чем отсекающее значение для IFN $\gamma$ , или равным ему.

Все пояснения и определения, представленные в настоящем описании для «ингибитора PD-L1», «совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1», «рака», «ракового пациента», «модулятора пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2)»,  
45 «химиотерапевтического средства», «образца», «уровня экспрессии» и т.п., применимы с соответствующими изменениями к описанным выше объектам настоящего изобретения.

Уровень экспрессии рецептора эстрогена (ER), лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1) и интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) в образце из организма пациента

можно измерять *in vitro* одновременно или последовательно в любой комбинации. Например, уровень экспрессии рецептора эстрогена (ER), лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) и интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) можно измерять одновременно. Уровень экспрессии рецептора эстрогена (ER) можно измерять первым, после чего

- 5 измерять уровень экспрессии лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) и интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ). Уровень экспрессии лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) можно измерять первым, после чего измерять (одновременно или последовательно) уровень экспрессии рецептора эстрогена (ER) и интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ). Уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) можно измерять первым,
- 10 после чего измерять (одновременно или последовательно) уровень экспрессии рецептора эстрогена (ER) и лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1). В контексте настоящего описания можно рассматривать и применять любой порядок/комбинацию измерений уровня экспрессии рецептора эстрогена (ER), лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) и интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) в образце из организма
- 15 пациента.

В контексте настоящего описания подразумевается, что пациента можно классифицировать как нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, если на первой стадии (1) установлено, что уровень экспрессии ER является низким или она отсутствует (например, ER(-)/ER-негативный) и, если на второй

- 20 стадии (2) установлено, что уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) находится ниже отсекающего значения для IFN $\gamma$  или равен ему, и, если на третьей стадии (3) установлено, что уровень экспрессии лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) превышает отсекающее значение для PDL-1.

Под объем настоящего изобретения подпадают следующие объекты.

- 25 Настоящее изобретение относится к способу определения потребности ракового пациента в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, (I) в котором пациенту показана терапия, включающая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, или (II) в котором пациента подвергают терапии, включающей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и
- 30 химиотерапевтическое средство, заключающийся в том, что осуществляют стадии, на которых

а) измеряют *in vitro* в образце из организма указанного пациента уровень экспрессии рецептора эстрогена (ER), лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) и уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ),

- 35 б) классифицируют пациента как нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, если на первой стадии (1) установлено, что уровень экспрессии ER является низким или она отсутствует (например, ER(-)/ER-негативный) и, если на второй стадии (2) установлено, что уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) находится ниже отсекающего значения для IFN $\gamma$  или равен ему, и, если на третьей
- 40 стадии (3) установлено, что уровень экспрессии лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) превышает отсекающее значение для PDL-1.

Настоящее изобретение относится к способу лечения рака у ракового пациента, которому показана терапия, включающая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, заключающемуся в том, что отбирают

- 45 ракового пациента, для рака которого на первой стадии (1) установлено, что уровень экспрессии ER является низким или она отсутствует (например, ER(-)/ER-негативный), и на второй стадии (2) установлено, что уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) находится ниже отсекающего значения для IFN $\gamma$  или равен ему, и на третьей стадии (3)

установлено, что уровень экспрессии лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) превышает отсекающее значение для PDL-1, и вводят пациенту в эффективном количестве модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), химиотерапевтическое средство и ингибитор лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1).

5 Настоящее изобретение относится к способу лечения рака у ракового пациента, которого подвергают терапии, включающей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, заключающемуся в том, что отбирают ракового пациента, для рака которого на первой стадии (1) установлено, что уровень экспрессии ER является низким или она отсутствует (например, ER(-)/ER-негативный), 10 и на второй стадии (2) установлено, что уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) находится ниже отсекающего значения для IFN $\gamma$  или равен ему, и на третьей стадии (3) установлено, что уровень экспрессии лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) превышает отсекающее значение для PDL-1, и вводят пациенту в эффективном количестве ингибитор лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1).

15 Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и ингибитор лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1), предназначенной для лечения рака, для которого установлено, что рак отличается низким уровнем экспрессии ER или она отсутствует (например, ER(-)/ER-негативный), отличается уровнем экспрессии 20 интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) более низким, чем отсекающее значение для IFN $\gamma$  или равным ему, отличается уровнем экспрессии лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1), превышающим отсекающее значение для PD-L1.

Все пояснения и определения, представленные в настоящем описании для «ингибитора PD-L1», «совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1», «рака», «ракового 25 пациента», «модулятора пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2)», «химиотерапевтического средства», «образца», «уровня экспрессии» и т.п., применимы с соответствующими изменениями к описанным выше объектам настоящего изобретения.

Ниже представлены примеры отсекающих значений, позволяющие классифицировать 30 пациента как нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, согласно настоящему изобретению. С помощью рутинных методик (таких как Affymetrix) можно легко определять, находится ли уровень экспрессии PD-L1 и/или IFN-гамма в образце из организма пациента ниже или выше указанных отсекающих значений.

Если анализ генной экспрессии свидетельствует о том, что уровень экспрессии IFN-гамма превышает или равен 4,8, то комбинированное лечение (мишенью которого 35 является HER2 и мишенью которого является PDL1) не рекомендуется и не требуется дополнительной оценки PDL1. Если анализ генной экспрессии свидетельствует о том, что уровень экспрессии IFN-гамма ниже 4,8, то необходима параллельная оценка PDL-1. Если затем анализ экспрессии гена PDL-1 свидетельствует о том, что уровень экспрессии превышает или равен 5,3, то рекомендуется комбинированное лечение 40 (мишенью которого является HER2 и мишенью которого является PDL1). Указанный приведенный в качестве примера протокол проиллюстрирован на фиг.19.

В этом контексте Affymetrix можно осуществлять следующим образом: Общую РНК из опухолевых клеток экстрагировали из фиксированных в формалине и заключенных в парафиновые блоки (FFPE) срезов опухолей с использованием набора для РНК для 45 системы LightCycler Pertuzumab FFPET (фирма Roche Diagnostics). РНК обрабатывали для гибридизации с помощью системы WT-Ovation FFPE V2 (фирма Nugen) и гибридизовали с массивами человеческого генома Affymetrix GeneChip® U133 Plus 2.0. Гибридизованные массивы промывали и окрашивали с использованием станции

Affymetrix Fluidics Station 450 и сканировали с помощью сканера Affymetrix GeneChip® 3000 7G.

Как отмечалось выше, уровень экспрессии PD-L1 и/или IFN-гамма в образце из организма пациента можно определять рутинными методами, такими как Affymetrix.

5 Ниже описан приведенный в качестве примера протокол такого определения (который обозначен также в контексте настоящего описания как определение профиля генной экспрессии):

Профили генной экспрессии в образцах биопсии опухолей можно определять с помощью платформы AFFYMETRIX HG-U133Plus 2 с микромассивами полного 10 человеческого генома. Можно применять набор HighPure для экстракции РНК фирмы Roche, набор для амплификации фирмы NuGen и стандартные протоколы гибридизации и сканирования, прилагаемые к системе AFFYMETRIX. Эти и другие протоколы включены в настоящее описание в качестве ссылки. Все массивы сканов, как правило, подвергали контролю качества (QC) с помощью стандартной программы AFFYMETRIX 15 QC.

Для предварительной обработки «сырых» сигналов можно использовать рабастный алгоритм для микромассивов (RMA) (Irizarry и др, 2003. World wide web at [.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12925520](http://ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12925520); публикация включена в настоящее описание в качествен ссылки). Все наборы зондов, доступные для представляющих интерес генов, можно получать как 20 описано ниже. Для гена CD274, когда доступно несколько наборов зонда для описания этого гена, то для описания гена выбирали набор зондов с наиболее высоким средним уровнем экспрессии (который определяли как арифметическое среднее уровней экспрессии данного набора зондов):

CD274 (PDL1)

25 223834\_at выбран для PDL1  
227458\_at

Выбранный набор зондов соответствует последнему экзону/3'UTR гена и охватывает все известные RefSEq мРНК (см. фиг. 6).

IFNG

30 210354\_at  
Этот набор зондов также соответствует последнему экзону/3'UTR гена и охватывает все известные RefSEq мРНК (см. фиг. 7).

Как описано выше, уровень экспрессии интерферона-гамма можно измерять до измерения уровня экспрессии рецептора эстрогена (ER) и/или до измерения уровня 35 экспрессии лиганда программируемой гибель клеток-1 (PD-L1). Стадия оценки уровня экспрессии рецептора эстрогена (ER) и уровня экспрессии лиганда программируемой гибель клеток-1 (PD-L1) даже может отсутствовать.

Как продемонстрировано в прилагаемом примере, совместная терапия с использованием PD-L1, например, может не рекомендоваться, если уровень экспрессии 40 интерферона-гамма ( $IFN\gamma$ ), определенный с помощью рутинных методов типа Affymetrix, превышает или равен (примерно) 4,8.

Таким образом, в настоящем изобретении предложен способ определения потребности ракового пациента в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, когда пациенту показана терапия, включающая модулятор пути передачи 45 сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство или когда пациента подвергают терапии, включающей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, заключающийся в том, что осуществляют стадии, на которых

а) измеряют *in vitro* в образце из организма указанного пациента уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ),

б) классифицируют пациента как нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, если уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) при оценке на стадии (а) с помощью рутинных методов типа Affymetrix превышает или равен (примерно) 4,8.

Если уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) ниже чем (примерно) 4,8 при определении с помощью рутинных методов типа Affymetrix, то уровень экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1) и необязательно рецептора эстрогена (ER) можно измерять *in vitro* в образце из организма указанного пациента.

Таким образом, в настоящем изобретении предложен способ определения потребности ракового пациента в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, когда пациенту показана терапия, включающая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство или когда пациента подвергают терапии, включающей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, заключающийся в том, что осуществляют стадии, на которых

а) измеряют *in vitro* в образце из организма указанного пациента уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ), рецептора эстрогена (ER) и лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1) и

б) классифицируют пациента как нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, если уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) при определении с помощью рутинных методов типа Affymetrix превышает или равен (примерно) 4,8, и, если на стадии (а) установлен низкий уровень или отсутствие экспрессии ER и необязательно повышенный по сравнению с контролем уровень лиганда программирующей гибели клеток-1 (PD-L1).

Согласно настоящему изобретению пациента можно классифицировать как нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, если уровень экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1), измеренный в образце из организма пациента, повышен по сравнению с контролем. Например, уровень экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1), определенный с помощью рутинных методов типа Affymetrix, может превышать или быть равным (примерно) 5,3.

Все пояснения и определения, представленные в настоящем описании для «ингибитора PD-L1», «совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1», «рака», «ракового пациента», «модулятора пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2)», «химиотерапевтического средства», «образца», «уровня экспрессии» и т.п. применимы с соответствующими изменениями к описанным выше объектам настоящего изобретения.

Таким образом, настоящее изобретение относится к способу лечения рака у ракового пациента, которому показана терапия, включающая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, заключающемуся в том, что отбирают ракового пациента, для рака которого установлено, что уровень экспрессии ER является низким или она отсутствует, и установлено, что уровень экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1) повышен по сравнению с контролем, и уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ), определенный с помощью рутинных методов типа Affymetrix, ниже чем (примерно) 4,8, и вводят пациенту в эффективном количестве модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), химиотерапевтическое средство и ингибитор лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1).

Кроме того, настоящее изобретение относится к способу лечения рака у ракового пациента, которого подвергают терапии, включающей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, заключающемуся в том, что отбирают ракового пациента, для рака которого установлено, что уровень

5 экспрессии ER является низким или она отсутствует, и установлено, что уровень экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1) повышен по сравнению с контролем, и уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ), определенный с помощью рутинных методов типа Affymetrix, ниже чем (примерно) 4,8, и вводят пациенту в эффективном количестве ингибитор лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1).

10 Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и ингибитор лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1), предназначенный для лечения рака, если установлено, что рак отличается низким уровнем экспрессии ER или ее отсутствием 15 и отличается повышенным уровнем экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1) по сравнению с контролем и уровнем экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ), определенным помошью рутинных методов типа Affymetrix, более низким чем (примерно) 4,8.

15 Фармацевтическая композиция, предназначенная для применения для лечения рака, 20 может содержать также химиотерапевтическое средство.

Согласно вышеизложенному представленные в настоящем описании способы могут включать стадию измерения уровня экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) в указанном образце и классификации пациента как нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, если установлено, что уровень экспрессии 25 интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) понижен по сравнению с контролем. Например, «пониженный уровень экспрессии» интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) может представлять собой уровень экспрессии, определенный с помощью рутинных методов типа Affymetrix, более низкий чем (примерно) 4,8. Таким образом, рак, отличающийся уровнем экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ), определенным с помощью рутинных методов типа Affymetrix, 30 более низким чем (примерно) 4,8, можно рассматривать как рак, для которого характерен пониженный уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) по сравнению с контролем.

35 В настоящем описании учитывается, что уровень экспрессии может найти свое отражение в активности генного продукта/белка. Таким образом, согласно настоящему изобретению можно также измерять и оценивать активность ER, PD-L1 и/или IFN- $\gamma$  в дополнение или в качестве альтернативы уровню экспрессии. Специалисту в данной области очевидны соответствующие средства и методы определения и оценки уровня экспрессии и/или активности ER, PD-L1 и IFN- $\gamma$ . Примеры методов, которые можно применять, включают (но, не ограничиваясь только ими) молекулярные анализы, такие 40 как Вестерн-блоттинг, Нозерн-блоттинг, ПЦР в реальном времени и т.п. Указанные методы подробно изложены в настоящем описании.

45 Уровень экспрессии ER, PD-L1 и/или IFN- $\gamma$  может представлять собой уровень экспрессии мРНК ER, PD-L1 и/или IFN- $\gamma$ . Если генный продукт представляет собой РНК, в частности мРНК (например, не подвергнутую сплайсингу, подвергнутую частичному или полному сплайсингу мРНК), то определение можно осуществлять, воспользовавшись методиками на основе Нозерн-блоттинга, гибридизации *in situ*, гибридизации на микромассивах или ДНК-чипах, несущих один или несколько зондов или наборы зондов, специфических для мРНК-транскриптов, или с помощью методов

на основе ПЦР, например, методов типа количественной ПЦР, такой как ПЦР в реальном времени. Эти и другие методы, пригодные для оценки связывания (специфической) мРНК, хорошо известны в данной области и описаны, например, у Sambrook и Russell (2001, loc. cit.). Специалист в данной области может определять количество компонента, в частности, указанных генных продуктов, воспользовавшись оценкой корреляции, предпочтительно линейной корреляции, между интенсивностью обнаруженного сигнала и количеством генного продукта, подлежащего определению.

Уровень экспрессии может представлять собой уровень экспрессии белка ER, PD-L1 и/или IFN- $\gamma$ . Количественную оценку уровня экспрессии белка можно осуществлять, воспользовавшись хорошо известными методами, такими как методы на основе Вестерн-блоттинга, иммуноанализы, методы на основе геля, блотов, ИГХ, масс-спектрометрия, проточная цитометрия, FACS и т.п. Как правило, специалисту в данной области очевидны методы количественной оценки полипептида(ов)/белка(ов). Количество очищенного полипептида в растворе можно определять физическими методами, например, фотометрией. Методы количественной оценки конкретного полипептида в смеси могут быть основаны на специфическом связывании, например, антител. Методы специфического обнаружения и количественной оценки на основе специфичности антител включают, например, иммуногистохимию (*in situ*). Вестерн-блоттинг объединяет разделение смеси белков путем электрофореза и специфическое обнаружение с помощью антител. Электрофорез может представлять собой электрофорез для многомерного разделения, такой как 2D-электрофорез. Как правило, полипептиды разделяют с помощью 2D-электрофореза по их кажущейся молекулярной массе в одном направлении и по их изоэлектрической точке в другом направлении. Альтернативно этому, методы количественной оценки белков могут включать (но, не ограничиваясь только ими) методы масс-спектрометрии или твердофазного иммуноферментного анализа.

В контексте настоящего изобретения можно применять также высокопроизводительный скрининг (HTS). Приемлемые для рассматриваемой цели (HTS)-подходы известны в данной области. Специалисту в данной области должно быть очевидно как легко адаптировать указанные протоколы или известные HTS-подходы для осуществления способов, предлагаемых в настоящем изобретении. Такие анализы, как правило, осуществляют в жидкой фазе, при этом для каждой подлежащей тестированию клетки/ткани/культуры клеток приготавливают по меньшей мере одну порцию реакционной смеси. Типичные применяемые контейнеры представляют собой титрационные микропланшеты, имеющие 384, 1536 или 3456 лунок (т.е. кратное количество по сравнению с «исходными» 96-луночными реакционными устройствами). Работотехника, программы для обработки и контроля данных и чувствительные детекторы также представляют собой широко применяемые компоненты устройства для HTS. Часто автоматическую систему используют для переноса титрационных микропланшетов из станции в станцию для добавления и смешения образца(ов) и реагента(ов), включая реагенты и конечные выходные данные (детекция). Как правило, HTS можно применять для одновременного приготовления, инкубации и анализа нескольких планшетов. Анализ можно осуществлять в виде одностадийной реакции (что, как правило, является предпочтительным), однако он может включать также стадии промывки и/или переноса. Обнаружение (детекцию) можно осуществлять на основе радиоактивности, люминисценции или флуоресценции, типа флуоресцентного резонансного переноса энергии (FRET) и флуоресцентной поляризации (FP) и т.п. В этом контексте можно применять также биологические образцы, указанные в настоящем описании. Для HTS можно применять, в частности, клеточные анализы и анализы *in*

vivo. Для клеточных анализов можно применять также клеточные экстракты, т.е. экстракты клеток, тканей и т.п. Однако согласно настоящему описанию предпочтительным является применение клетки(ок) или ткани(ей) в качестве биологического образца (в частности, образца, полученного из организма/индивидуума, 5 страдающего раком или предрасположенного к раку), при этом, анализы *in vivo* являются наиболее ценными для валидации модуляторов/ингибиторов/ химиотерапевтических средств, подлежащих применению в контексте настоящего описания. В зависимости от результатов первого анализа последующие анализы можно осуществлять путем повторения эксперимента для сбора дополнительных данных с 10 использованием уменьшенного набора (например, образцов, выявленных в качестве «позитивных» в первом анализе), подтверждая и уточняя полученные результаты.

В контексте предлагаемых в изобретении способов примером «контроля» предпочтительно является (но, не ограничиваясь только ими) контрольный пациент, который не нуждается в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, 15 например, образец/клетка/ткань из организма одного или нескольких здоровых индивидуумов или одного или нескольких пациентов, страдающих раком/опухолью, и для которых известно, что они не нуждаются в лечении, включающем совместную терапию с использованием ингибитора PD-L1. Например, указанный контроль (образец) может быть из организма пациента, на которого не оказывает благоприятное действие 20 дополнительная совместная терапия с использованием ингибитора PD-L1. Другим примером «контроля» является (но, не ограничиваясь только ими) «внутренний стандарт», например, смесь очищенных или полученных путем синтеза белков и/или пептидов, или РНК, в котором количество каждого из таких компонентов как белок/ пептид/РНК калибруют, используя описанный выше контроль.

25 Другим примером «контроля» может являться (но, не ограничиваясь только ими) «здоровый» контроль, например, образец/клетка/ткань здорового индивидуума или пациента, который не страдает раком/опухолью, или клетка, полученная из организма такого индивидуума. Согласно высказанному референс-уровень или контрольный уровень экспрессии ER, PD-L1 и/или IFN- $\gamma$  определяют в (образце) соответствующего 30 здорового контрольного индивидуума/пациента, т.е., имеющего «нормальный» статус ER, PD-L1 и/или IFN- $\gamma$ . Контроль может представлять собой также образец/клетку/ ткань, полученный/полученную из организма индивидуума или пациента, который, как предполагается, может страдать раком, при условии, что образец/клетка /ткань не содержат опухолевых или раковых клеток. В еще одном альтернативном варианте 35 «контроль» может представлять собой образец/клетку/ткань, взятый/взятую из организма индивидуума или пациента, страдающего раком, до развития или диагностирования указанного рака.

Образец, подлежащий оценке согласно представленному в настоящем описании способу, может содержать непораженные болезнью клетки и/или пораженные болезнью 40 клетки, т.е. нераковые клетки и/или раковые клетки. Однако содержание раковых клеток среди нераковых клеток должно превышать, например 50%. Образец может также (или даже исключительно) содержать раковую(ые)/опухолевую(ые) клетку(и), например, раковую(ые)/опухолевую(ые) клетку(и) молочной железы. Понятие «образец», как правило, может означать любой биологический образец, полученный из опухоли 45 пациента. Образец можно получать путем резекции ткани или биопсии ткани. Образец может также представлять собой метастатическое повреждение или срез метастатического повреждения или образец крови, который, как известно или как предполагается, содержит циркулирующие опухолевые клетки. Согласно

вышесказанному биологический образец может содержать раковые клетки и в определенном количестве, т.е., менее, например, 50%, нераковые клетки (другие клетки). Специалист в области патоморфологии может провести дифференциацию раковых клеток и клеток здоровой ткани. Методы получения биопсий ткани, резекций ткани и 5 общей воды организма и т.п. из организма млекопитающих, таких как люди, хорошо известны в данной области.

Как описано выше, раковый пациент, который согласно настоящего изобретению классифицирован в качестве нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, подвергается терапии, включающей модулятор пути передачи 10 сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, или такая терапия, включающая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, показана пациенту. Терапия, включающая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, показана пациентам с «HER2-позитивным раком», например, пациенту, который, как ожидается, 15 может страдать HER2-позитивным раком, страдает HER2-позитивным раком или предрасположен к HER2-позитивному раку. Предпочтительно рак, подлежащий лечению согласно настоящему изобретению, представляет собой «HER2-позитивный рак», прежде всего «HER2-позитивный рак молочной железы». «HER2-позитивный рак» может представлять собой «HER2-позитивный рак молочной железы» или «HER2-позитивный 20 рак желудка». Кроме того, HER2-позитивный рак может представлять собой рак яичника, рак легкого, колоректальный рак, рак почки, рак кости, рак костного мозга, рак мочевого пузыря, рак кожи, рак предстательной железы, рак пищевода, рак слюнной железы, рак поджелудочной железы, рак печени, рак головы и шеи, рак ЦНС (прежде всего головного мозга), рак шейки матки, рак хряща, рак ободочной кишки, рак 25 мочеполовой системы, рак желудочно-кишечного тракта, рак поджелудочной железы, рак синовиальной оболочки, рак яичек, рак тимуса, рак щитовидной железы и рак матки.

В контексте настоящего описания «HER2-позитивный рак» относится к раковой/опухолевой ткани и т.д., которая содержит раковые клетки, в которых уровень HER2 превышает нормальные уровни. Для целей настоящего изобретения «HER2-позитивный рак» имеет иммуногистохимический (ИГХ) балл, составляющий по меньшей мере 2+, и/или коэффициент амплификации при оценке путем гибридизации *in situ* (ISH), 30 составляющий  $\geq 2,0$  (т.е. является ISH-позитивным). Таким образом, считается, что имеет место HER2-позитивный рак, если обнаружен высокий уровень экспрессии HER2 (белка), например, иммуногистохимическими методами, и/или обнаружена амплификация 35 гена HER2, выявленная путем гибридизации *in situ* (ISH-позитивный статус, например, когда количество копий гена HER2 превышает 4 копии гена HER2 на опухолевую клетку, или при наличии соотношения количества копий гена HER2 и количества сигналов зонда CEP17)  $\geq 2,0$  в образцах, полученных из организма пациента, например, 40 в биопсиях ткани молочной железы или резекциях ткани молочной железы или в ткани, полученной из областей метастазов. В одном из вариантов осуществления изобретения «HER2-позитивный рак» имеет иммуногистохимический (ИГХ) балл HER2(3+) и/или является ISH-позитивным.

Уровень экспрессии HER2 можно определять иммуногистохимическим методом, а 45 указанный статус амплификации гена HER2 можно измерять методами гибридизации *in situ*, типа методик флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH). Соответствующие анализы и наборы хорошо известны в данной области для анализов экспрессии белков, а также для обнаружения амплификаций генов. Альтернативно этому, можно

использовать другие методы типа qOT-ПЦР для определении уровней экспрессии гена HER2.

Уровень экспрессии HER2 можно определять среди прочего иммуногистохимическим методом. Указанные методы хорошо известны в данной области и в продажу поступают

5 соответствующие наборы. Примером наборов, которые можно применять согласно настоящему изобретению, являются среди прочего HerceptTest™, который выпускается и распространяется фирмой Dako, или тест, обозначенный как Ventana Pathway™.

Уровень экспрессии белка HER2 можно оценивать, используя реагенты, входящие в набор HercepTest™, и согласно прилагаемому к нему протоколу. Специалисту в данной

10 области должны быть известны другие средства и методы определения уровня экспрессии HER2 иммуногистохимическими методами (см., например, WO 2005/117553). Таким образом, специалист в данной области без чрезмерных усилий может с помощью простого и воспроизводимого метода определять уровень экспрессии HER2. Однако для гарантии точности и воспроизводимости результатов тестирования следует

15 осуществлять в специализированной лаборатории, которая может гарантировать валидацию процедур тестирования.

Уровень экспрессии HER2 можно классифицировать как низкий уровень экспрессии, умеренный уровень экспрессии и высокий уровень экспрессии. В контексте настоящего изобретения предпочтительно определяют HER2-позитивное заболевание по высокому 20 уровню экспрессии HER2 (например, HER2(3+)) по данным ИГХ), например, определенному в образце, взятом из организма ракового пациента.

Рекомендованная балльная система оценки картины ИГХ-окрашивания, которая отражает уровни экспрессии HER2, обозначенные в настоящем описании как HER2(0), HER2(+), HER2(++) и HER2(+++), представлена ниже:

Балл интенсивности окрашивания	Картина окрашивания	Оценка сверхэкспрессии HER2
0	Не обнаружено никакого окрашивания или окрашивание мембранны обнаружено у < 10% опухолевых клеток	Отрицательная
1+	Слабое/едва различимое окрашивание мембранны обнаружено у >10% опухолевых клеток. Окрашена только часть мембранны клеток.	Отрицательная
2+	Полное окрашивание от слабого до умеренного обнаружено у > 10% опухолевых клеток.	Сверхэкспрессия от слабой до умеренной
3+	Сильное полное окрашивание мембранны обнаружено у > 10% опухолевых клеток	Сильная сверхэкспрессия

Приведенные выше картины ИГХ-окрашивания, как правило, применяют для определения HER2-позитивного рака молочной железы. Понятия (обозначения) HER2 (+), HER2(++) и HER2(+++), применяемые в настоящем описании, эквиваленты понятиям (обозначениям) HER2(1+), HER2(2+) и HER2(3+). В контексте настоящего описания 40 «низкий уровень экспрессии белка» соответствует баллу 0 или 1+ («негативная оценка» в приведенной выше таблице), «уровень экспрессии белка от слабого до умеренного» соответствует баллу 2+ («сверхэкспрессия от слабой до умеренной»), см. выше в таблице) и «высокий уровень экспрессии белка» соответствует баллу 3+ («сильная сверхэкспрессия», см. выше в таблице). Как подробно описано выше в контексте 45 настоящего описания, оценка уровня экспрессии белка (т.е. балльная система, представленная в таблице) базируется на результатах, полученных иммуногистохимическими методами. Таким образом, в качестве стандартного или общепринятого метода для определения статуса HER-2 применяют

иммуногистохимический метод с использованием одного из двух разрешенных FDA поступающих в продажу наборов; таких как Dako Herceptest™ и Ventana Pathway™. Они представляют собой полуколичественные анализы, которые позволяют 5 стратифицировать уровни экспрессии на следующие группы: 0 (<20000 рецепторов на клетку, отсутствие видимой экспрессии при ИГХ-окрашивании), 1+ (~100000 рецепторов на клетку, частичное окрашивание мембраны, <10% клеток, сверхэкспрессирующих HER-2), 2+ (~500000 рецепторов на клетку, полное окрашивание мембраны от слабого 10 до умеренного, >10% клеток, сверхэкспрессирующих HER-2) и 3+ (~2000000 рецепторов на клетку, сильное полное окрашивание мембраны, >10% клеток, сверхэкспрессирующих HER-2).

Альтернативному этому, можно применять другие методы оценки уровня экспрессии белка HER2, например, Вестерн-блоттинг, системы детекции на основе ELISA и т.д.

HER2-позитивный рак можно диагностировать также путем оценки статуса 15 амплификации гена HER2. Таким образом, HER2-позитивный рак диагностируют, если указанная оценка с помощью ISH является позитивной. Согласно указанной оценке HER2-позитивный рак может среди прочего иметь место, когда среднее количество копий гена HER2 превышает 4 копии гена HER2 на опухолевую клетку (при применении тест-систем без контрольного зонда внутреннего центромерного домена) или когда соотношение HER2/CEP17  $\geq 2,0$  (при применении тест-систем, в которых используется 20 контрольный зонд внутреннего центромерного домена хромосомы 17). Другим словами, HER2-позитивный рак может среди прочего иметь место, когда количество копий гена HER2 превышает 4. Уровень амплификации гена HER2 легко можно идентифицировать путем гибридизации *in situ* (ISH), типа флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), 25 хромогенной гибридизации *in situ* (CISH) и усиленная серебром гибридизации *in situ* (SISH). Эти методы известны специалистам в данной области. Принципы этих методов можно почерпнуть из стандартных учебников. Доступны поступающие в продажу наборы для определения статуса амплификации гена HER2 путем гибридизации *in situ*.

Ниже представлены картины ИГХ-окрашивания для определения HER2-позитивного рака желудка (см. вкладыш в упаковке к набору Dako Herceptest): «...при окрашивании 30 биопсий с помощью Hercep Test рекомендовано оценивать кластер, включающий по меньшей мере 5 окрашенных опухолевых клеток. Кластер по меньшей мере из 5 окрашенных опухолевых клеток состоит из 5 смежных окрашенных в отношении HER2 опухолевых клеток».

35

40

45

**Таблица 9: Интерпретация и балльная оценка иммуногистохимического окрашивания HER2**

Балл	Образец, полученный путем хирургии – картина окрашивания	Образец, полученный путем биопсии – картина окрашивания	Оценка сверхэкспрессии HER2
0	Отсутствие реактивности или реактивность мембран у < 10% опухолевых клеток	Отсутствие реактивности или отсутствие реактивности мембран у всех (или < 5 из кластера) опухолевых клеток	Негативная
1+	Слабая/едва различимая реактивность мембран у ≥ 10% опухолевых клеток, реактивностью обладает только часть мембранных клеток	Кластер опухолевых клеток (≥ 5 клеток) со слабой/едва различимой реактивностью мембран вне зависимости от процента окрашенных опухолевых клеток	Негативная
2+	От слабой до умеренной полная базолатеральная или латеральная реактивность мембран у ≥ 10% опухолевых клеток	Кластер опухолевых клеток (≥ 5 клеток) с полной от слабой до умеренной базолатеральной или латеральной реактивностью мембран вне зависимости от процента окрашенных опухолевых клеток	Сомнительная
3+	Сильная полная базолатеральная или латеральная реактивность мембран у ≥ 10% опухолевых клеток	Кластер опухолевых клеток (≥ 5 клеток) с сильной полной базолатеральной или латеральной реактивностью мембран вне зависимости от процента окрашенных опухолевых клеток	Позитивная

Руководство на основе Hofmann и др. (40)»

Ниже представлены более точные картины ИГХ-окрашивания для определения HER2-позитивного рака желудка:

Балл интенсивности окрашивания	Образец, полученный путем хирургии – картина окрашивания	Образец, полученный путем биопсии – картина окрашивания	Оценка сверхэкспрессии HER2
0	Отсутствие реактивности или реактивность мембран у < 10% опухолевых клеток	Отсутствие реактивности или отсутствие реактивности мембран у всех опухолевых клеток	Негативная
1+	Слабая/едва различимая реактивность мембран у ≥ 10% опухолевых клеток, реактивностью обладает только часть мембранных клеток	Кластер опухолевых клеток (≥ 5 клеток) со слабой/едва различимой реактивностью мембран вне зависимости от процента окрашенных опухолевых клеток	Негативная
2+	От слабой до умеренной полная базолатеральная или латеральная реактивность мембран у ≥ 10% опухолевых клеток	Кластер опухолевых клеток (≥ 5 клеток) с полной от слабой до умеренной базолатеральной или латеральной реактивностью мембран вне зависимости от процента окрашенных опухолевых клеток	Сомнительная
3+	Сильная полная базолатеральная или латеральная реактивность мембран у ≥ 10% опухолевых клеток	Кластер опухолевых клеток (≥ 5 клеток) с сильной полной базолатеральной или латеральной реактивностью мембран вне зависимости от процента окрашенных опухолевых клеток	Позитивная

Как указано выше, HER2-позитивный рак, подлежащий лечению согласно настоящему

изобретению, может представлять собой рак молочной железы, например, рак молочной железы ранней стадии. В контексте настоящего описания понятие «рак молочной железы ранней стадии» относится к раку молочной железы, который еще не распространился за пределы молочной железы или аксилярных лимфатических узлов. Указанный рак,

5 как правило, можно лечить с помощью неоадьювантной или адьювантной терапии. В контексте настоящего описания понятие «неоадьювантная терапия» относится к системной терапии, применяемой до хирургической операции. Понятие «адьювантная терапия» относится к системной терапии, применяемой после хирургической операции. Согласно вышесказанному лечение рака молочной железы ранней стадии можно

10 осуществлять с помощью неоадьювантной или адьювантной терапии.

Согласно вышесказанному подлежащий оценке образец можно получать (получали) из организма пациента с HER2-позитивным раком, описанным выше. Например, образец можно получать из опухолевой ткани, опухоли(ей), и соответственно он представляет собой опухолевую(ые) клетку(и) или опухолевую(ые) ткань(и), предположительно

15 HER2-позитивной опухоли типа опухоли молочной железы и т.п. Специалист в данной области может идентифицировать указанные опухоли и/или индивидуумов/пациентов, страдающих соответствующим раком, с использованием стандартных методик, известных в данной области, и методов, представленных в настоящем описании. Как правило, указанную опухолевую клетку или раковую клетку можно получать из

20 биологического источника/организма, в частности, любого биологического источника/организма, страдающего указанным выше раком. В контексте настоящего изобретения наиболее ценные клетки представляют собой предпочтительно человеческие клетки. Эти клетки можно получать, например, из биопсий или из биологических образцов.

25 Опухоль/рак/опухолевая клетка/раковая клетка представляет собой солидную опухоль/рак/опухолевую клетку/раковую клетку. Согласно вышесказанному раковая/опухолевая клетка может представлять собой раковую/опухолевую клетку молочной железы, или указанный образец содержит раковую/опухолевую клетку, такую как раковую/опухолевую клетку молочной железы. В свете вышеизложенного указанная/указанный опухоль/рак может представлять собой опухоль/рак молочной железы.

30 Модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) может представлять собой ингибитор HER2, например, ингибитор димеризации/передачи сигналов HER. Ингибитор димеризации HER может представлять собой ингибитор димеризации HER2. Ингибитор димеризации HER может ингибировать гетеродимеризацию HER или гомодимеризацию HER. Ингибитор димеризации HER может представлять собой антитело к HER. В

35 контексте настоящего описания понятие «антитело» применяют в его наиболее широком смысле, и оно, в частности, включает интактные моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), образованные по меньшей мере из двух интактных антител и фрагменты

40 антител, если они сохраняют требуемую биологическую активность. Под понятие подпадают также человеческие и гуманизированные антитела, а также антитела с трансплантированными CDR.

Антитело к HER может связываться с HER-рецептором, выбранным из группы, состоящей из EGFR, HER2 и HER3. Предпочтительно антитело связывается с HER2. Антитело к HER2 может связываться с доменом II внеклеточного домена HER2.

45 Антитело может связываться с областью стыка между доменами I, II и III внеклеточного домена HER2. Антитело к HER2 может представлять собой пертузумаб.

Для целей настоящего описания «пертузумаб» и «rhuMAb 2C4», которые применяют взаимозаменяя, относится к антителу, содержащему вариабельный домен легкой

цепи и вариабельный домен тяжелой цепи (их аминокислотные последовательности представлены в SEQ ID NO: 5 и 6 соответственно на фиг. 2). Вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи варианта 574/пертузумаба также представлены на фиг. 2 (их аминокислотные последовательности представлены в SEQ ID NO: 7 и 8 соответственно на фиг. 2). Если пертузумаб представляет собой интактное антитело, то он предпочтительно представляет собой антитело IgG1-типа; в одном из вариантов осуществления изобретения содержащий аминокислотную последовательность легкой цепи, предпочтительно содержащий аминокислотные последовательности легкой цепи и тяжелой цепи, которые представлены на фиг. 3А/3Б и 5А/5Б (на фиг. 5А/5Б показаны 10 аминокислотные последовательности легкой цепи и тяжелой цепи варианта пертузумаба). Аминокислотные последовательности тяжелых цепей пертузумаба, представленные на фиг. 3Б, могут необязательно содержать дополнительную аминокислоту «К» в 15 положении 449 на С-конце. Антитело необязательно получают с помощью рекомбинантных клеток яичника китайского хомячка (CHO). В контексте настоящего описания под понятия «пертузумаб» и «rhuMAb 2C4» подпадают биологически подобные версии лекарственного средства согласно принятой в США номенклатуре лекарственных средств (USAN) или согласно международному непатентованному названию (INN): пертузумаб. И в этом случае, соответствующие последовательности представлены на фиг. 2-5.

20 Модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) может представлять собой ингибитор отщепления HER, например, ингибитор отщепления HER2. Ингибитор отщепления HER может ингибировать гетеродимеризацию HER или гомодимеризацию HER. Указанный ингибитор отщепления HER может представлять собой антитело к HER.

25 В контексте настоящего описания понятие «антитело» применяют в его наиболее широком смысле, и оно, в частности, включает интактные моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), образованные по меньшей мере из двух интактных антител и фрагменты 30 антител, если они сохраняют требуемую биологическую активность. Под понятие подпадают также человеческие и гуманизированные антитела, а также антитела с трансплантированными CDR.

Антитело к HER может связываться с HER-рецептором, выбранным из группы, состоящей из EGFR, HER2 и HER3. Предпочтительно антитело связывается с HER2. Антитело к HER2 может связываться с субдоменом IV внеклеточного домена HER2.

35 Предпочтительно антитело к HER2 представляет собой Herceptin™/трастузумаб.

Для целей настоящего описания понятия «Herceptin™»/«трастузумаб» и «rhuMAb4D5-8», которые применяют взаимозаменяя, относятся к антителу, содержащему вариабельные домены легкой цепи и вариабельные домены тяжелых цепей (их аминокислотные последовательности представлены на фиг. 4 соответственно; домены 40 обозначены стрелками). Если трастузумаб представляет собой интактное антитело, то он предпочтительно представляет собой антитело IgG1-типа; в одном из вариантов осуществления изобретения содержащий аминокислотную последовательность легкой цепи и аминокислотную последовательность тяжелой цепи, которые представлены на фиг. 4. Антитело необязательно получают с помощью рекомбинантных клеток яичника 45 китайского хомячка (CHO). В контексте настоящего описания под понятия «трастузумаб» и «rhuMAb4D5-8» подпадают биологически подобные версии лекарственного средства согласно принятой в США номенклатуре лекарственных средств (USAN) или согласно международному непатентованному названию (INN):

трастузумаб.

Ингибитор лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) может представлять собой антитело, специфически связывающееся с PD-L1 (антитело к PD-L1). И в этом случае понятие «антитело» применяют в его наиболее широком смысле, и оно, в частности, включает интактные моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), образованные по меньшей мере из двух интактных антител и фрагменты антител, если они сохраняют требуемую биологическую активность. Под понятие подпадают также человеческие и гуманизированные антитела, а также антитела с трансплантированными CDR.

Примеры антител к PD-L1 описаны в WO 2010/077634, которая полностью включен в настоящее описание в качестве ссылки. Соответствующие приведенные в качестве примеров антитела к PD-L1, которые можно применять согласно настоящему изобретению, описаны ниже.

Антитело к PD-L1 может содержать полипептид вариабельной области тяжелой цепи, содержащий последовательность HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, в котором:

(а) последовательность HVR-H1 представляет собой GFTFSX1SWIH (SEQ ID NO: 1);

(б) последовательность HVR-H2 представляет собой AWIX2PYGGSX3YYADSVKG (SEQ ID NO: 2);

(в) последовательность HVR-H3 представляет собой RHWPGGF DY (SEQ ID NO: 3);

кроме того, в котором: X1 обозначает D или G; X2 обозначает S или L; X3 обозначает T или S. X1 может обозначать D; X2 может обозначать S и X3 может обозначать T.

Полипептид может содержать также последовательности каркасных участков вариабельной области тяжелой цепи, расположенные между HVR, что соответствует следующей схеме: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4). Последовательности каркасных участков можно выводить из консенсусных последовательностей человеческих каркасных участков. Последовательности каркасных участков могут представлять собой консенсусный каркасный участок VH подгруппы III. Одна или несколько последовательностей каркасных участков может представлять собой следующие последовательности:

HC-FR1, которая представляет собой EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO: 4),

HC-FR2, которая представляет собой WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO: 5),

HC-FR3, которая представляет собой RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTA VYYC

AR (SEQ ID NO: 6),

HC-FR4, которая представляет собой WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO: 7).

Полипептид тяжелой цепи может присутствовать в сочетании с вариабельной областью легкой цепи, содержащей HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, где:

(а) последовательность HVR-L1 представляет собой RASQX4X5X6TX7X8A (SEQ ID NO: 8);

(б) последовательность HVR-L2 представляет собой SASX9LX10S (SEQ ID NO: 9) и

(в) последовательность HVR-L3 представляет собой QQX11X12X13X14PX15T (SEQ ID NO: 10);

где, кроме того: X4 обозначает D или V; X5 обозначает V или I; X6 обозначает S

или N; X7 обозначает A или F; X8 обозначает V или L; X9 обозначает F или T; X10 обозначает Y или A; X11 обозначает Y, G, F или S; X12 обозначает L, Y, F или W; X13 обозначает Y, N, A, T, G, F или I; X14 обозначает H, V, P, T или I; X15 обозначает A,

W, R, P или T.

X4 может обозначать D; X5 может обозначать V; X6 может обозначать S; X7 может обозначать A; X8 может обозначать V; X9 может обозначать F; X10 может обозначать Y; X11 может обозначать Y; X12 может обозначать L; X13 может обозначать Y; X14 может обозначать H; X15 может обозначать A.

5 Полипептид может содержать также последовательности каркасных участков вариабельной области легкой цепи, расположенные между HVR, что соответствует следующей схеме: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4). Последовательности каркасных участков можно выводить из консенсусных 10 последовательностей человеческих каркасных участков. Последовательности каркасных участков могут представлять собой консенсусный каркасный участок VL каппа I. Одна или несколько последовательностей каркасных участков может(гут) представлять собой следующие последовательности:

LC-FR1, которая представляет собой DIQMTQSPSSLASVGDRVITC (SEQ ID NO: 11);

15 LC-FR2, которая представляет собой WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 12);

LC-FR3, которая представляет собой GPVSRFGSGSGTDFTLTSSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 13);

LC-FR4, которая представляет собой FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 14).

Антитело к PD-L1 (или его антигенсвязывающий фрагмент) может содержать 20 последовательность вариабельной области тяжелой цепи и легкой цепи, где:

(а) тяжелая цепь содержит HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, в которых также:

(I) последовательность HVR-H1 представляет собой GFTFSX1SWIH (SEQ ID NO: 1);

(II) последовательность HVR-H2 представляет собой AWIX2PYGGSX3YYADSVKG (SEQ ID NO: 2);

25 (III) последовательность HVR-H3 представляет собой RHWPGGF DY (SEQ ID NO: 3);

и

(б) легкая цепь содержит HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, в которых также:

(IV) последовательность HVR-L1 представляет собой RASQX4X5X6TX7X8A (SEQ ID NO: 8);

30 (V) последовательность HVR-L2 представляет собой SASX9LX10S (SEQ ID NO: 9);

(VI) последовательность HVR-L3 представляет собой QQX11X12X13X14PX15T (SEQ ID NO: 10);

35 в которых: X1 обозначает D или G; X2 обозначает S или L; X3 обозначает T или S; X4 может обозначать D или V; X5 может обозначать V или I; X6 может обозначать S или N; X7 может обозначать A или F; X8 может обозначать V или L; X9 может обозначать F или T; X10 может обозначать Y или A; X11 может обозначать Y, G, F или S; X12 может обозначать L, Y, F или W; X13 может обозначать Y, N, A, T, G, F или I; X14 может обозначать H, V, P, T или I; X15 может обозначать A, W, R, P или T.

40 X1 может обозначать D; X2 может обозначать S и X3 может обозначать T. Кроме того, положения могут представлять собой: X4=D, X5=V, X6=S, X7=A и X8=V, X9=F и X10=Y, X11=Y, X12=L, X13=Y, X14=H и/или X15=A. Кроме того, положения могут представлять собой: X1=D, X2=S и X3=T, X4=D, X5=V, X6=S, X7=A и X8=V, X9=F и X10=Y, X11=Y, X12=L, X13=Y, X14=H и X15=A.

Антитело (его антигенсвязывающий фрагмент) может содержать также

45 (а) последовательности каркасных участков вариабельной области тяжелой цепи, расположенные между HVR, что соответствует следующей схеме: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4), и

(б) последовательности каркасных участков вариабельной области легкой цепи,

расположенные между HVR, что соответствует следующей схеме: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4). Последовательности каркасных участков можно выводить из консенсусных последовательностей человеческих каркасных участков.

5 Последовательности каркасных участков вариабельной области тяжелой цепи могут представлять собой консенсусный каркасный участок VH подгруппы III. Одна или несколько последовательностей каркасных участков может(гут) представлять собой следующие последовательности:

HC-FR1, которая представляет собой

10 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO: 4),

HC-FR2, которая представляет собой

WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO: 5),

HC-FR3, которая представляет собой

RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6),

15 HC-FR4, которая представляет собой

WGQGTLTVSA (SEQ ID NO: 7).

Последовательности каркасных участков вариабельной области легкой цепи могут представлять собой консенсусный каркасный участок VL каппа I. Одна или несколько последовательностей каркасных участков может представлять собой следующие

20 последовательности:

LC-FR1, которая представляет собой

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 11);

LC-FR2, которая представляет собой

WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 12);

25 LC-FR3, которая представляет собой

GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 13);

LC-FR4, которая представляет собой FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 14).

Антитело (или его антигенсвязывающий фрагмент) может представлять собой или может содержать

30 (а) следующие последовательности каркасного участка вариабельной области тяжелой цепи:

(I) HC-FR1, которая представляет собой EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO: 4);

(II) HC-FR2, которая представляет собой

35 WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO: 5);

(III) HC-FR3, которая представляет собой

RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6);

(IV) HC-FR4, которая представляет собой

WGQGTLTVSA (SEQ ID NO: 7); и

40 (б) следующие последовательности каркасного участка вариабельной области легкой цепи:

(I) LC-FR1, которая представляет собой

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 11);

(II) LC-FR2, которая представляет собой

45 WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 12);

(III) LC-FR3, которая представляет собой

GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 13);

(IV) LC-FR4, которая представляет собой

FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 14).

Антитело (или его фрагмент) может содержать также человеческую константную область. Константную область можно выбирать из группы, состоящей из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Константная область может представлять собой константную область

5 IgG1. Антитело (или его фрагмент) может содержать также мышиную константную область. Константную область можно выбирать из группы, состоящей из IgG1, IgG2A, IgG2B и IgG3. Константная область может представлять собой константную область IgG2A.

Антитело (или его фрагмент) может иметь область пониженной или минимальной

10 эфекторной функцией. Минимальная эфекторная функция может являться результатом снижающей эфекторную функцию (effector-less) мутации в Fc-области. Снижающая эфекторную функцию мутация в Fc-области может представлять собой N297A. Снижающая эфекторную функцию мутация в Fc-области может представлять собой D265A/N297A. Минимальная эфекторная функция может являться результатом 15 агликазилирования.

Антитело (или его фрагмент) может содержать последовательность вариабельной области тяжелой цепи и легкой цепи, где:

(а) тяжелая цепь содержит HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, которые обладают по меньшей мере 85%-ной идентичностью по всей длине последовательности с GFTFSDSWIH (SEQ 20 ID NO: 15), AWISPYGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 16) и RHWPGGF DY (SEQ ID NO: 3) соответственно, и

(б) легкая цепь содержит HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, которые обладают по меньшей мере 85%-ной идентичностью по всей длине последовательности с RASQDVSTAVA (SEQ ID NO: 17), SASFLYS (SEQ ID NO: 18) и QQYLYHPAT (SEQ ID NO: 19)

25 соответственно.

Идентичность последовательностей может составлять по меньшей мере 90%.

Антитело (или его фрагмент) может содержать также:

(а) последовательности каркасных участков вариабельной области тяжелой цепи (VH), расположенные между HVR, что соответствует следующей схеме: (HC-FR1)-(HVR-30 H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4) и

(б) последовательности каркасных участков вариабельной области легкой цепи (VL), расположенные между HVR, что соответствует следующей схеме: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4).

Антитело (или его фрагмент) может содержать также каркасную область VH и VL, 35 выведенную из человеческой консенсусной последовательности. Последовательность каркасного участка VH может быть выведена из последовательности подгруппы I, II или III по Кэботу. Последовательность каркасного участка VH может представлять собой консенсусную последовательность каркасного участка подгруппы III по Кэботу. Последовательности каркасных участков VH могут представлять собой следующие 40 последовательности:

HC-FR1, которая представляет собой

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO: 4);

HC-FR2, которая представляет собой

WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO: 5);

45 HC-FR3, которая представляет собой

RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6);

HC-FR4, которая представляет собой

WGQGTLTVSA (SEQ ID NO: 7).

Последовательность каркасного участка VL можно выводить из последовательности подгруппы каппа I, II, III или IV по Кэботу. Последовательность каркасного участка VL может представлять собой консенсусную последовательность каркасного участка подгруппы каппа I по Кэботу.

5 Последовательности каркасных участков VL могут представлять собой следующие последовательности:

LC-FR1, которая представляет собой

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 11);

LC-FR2, которая представляет собой

10 WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 12);

LC-FR3, которая представляет собой

VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 13);

LC-FR4, которая представляет собой

FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 14).

15 Антилого (или его фрагмент) может содержать последовательность вариабельной области тяжелой цепи и легкой цепи, где:

(а) последовательность тяжелой цепи идентична по меньшей мере на 85%

последовательности тяжелой цепи:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGG

20 STYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGF

DYWGQQGTLTVSA (SEQ ID NO: 20) и

(б) последовательность легкой цепи идентична по меньшей мере на 85%

последовательности легкой цепи:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSG

25 VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYH PATFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 21).

Идентичность последовательностей может составлять по меньшей мере 90%.

Антилого (или его фрагмент) может содержать последовательность вариабельной области тяжелой цепи и легкой цепи, где:

30 (а) тяжелая цепь содержит последовательность:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGG

STYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGF

DYWGQQGTLTVSA (SEQ ID NO: 20) и

(б) легкая цепь содержит последовательность:

35 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSG

VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYH PATFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 21).

Кроме того, антилого к PD-L1 может кодироваться нуклеиновой кислотой. Таким образом, в настоящем изобретении описана выделенная нуклеиновая кислота,

40 кодирующая описанный выше полипептид/антилого (или его фрагмент).

В настоящем описании представлена выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая последовательность вариабельной области легкой цепи и тяжелой цепи антилого к PD-L1 или антигенсвязывающего фрагмента, в котором:

(а) тяжелая цепь содержит также последовательность HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3,

45 которая по меньшей мере на 85% идентична последовательности GFTFSDSWIHW (SEQ ID NO: 15), AWISPYGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 16) и RHWPAGFDY (SEQ ID NO: 3) соответственно, или

(б) легкая цепь содержит также последовательность HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3,

которая по меньшей мере на 85% идентична последовательности RASQDVSTAVA (SEQ ID NO: 17), SASFLYS (SEQ ID NO: 18) и QQYLYHPAT (SEQ ID NO: 19) соответственно.

Идентичность последовательностей может составлять 90%. Антитело к PD-L1 может содержать также каркасные участки VL и VH, выведенные из человеческой консенсусной

5 последовательности. VH-последовательность можно выводить из последовательности подгруппы I, II или III по Кэботу. VL-последовательность можно выводить из последовательности подгруппы каппа I, II, III или IV по Кэботу. Антитело к PD-L1 может содержать константную область, выведенную из мышного антитела. Антитело к PD-L1 может содержать константную область, выведенную из человеческого антитела.

10 Константная область может представлять собой константную область IgG1. Антитело, кодируемое нуклеиновой кислотой, может обладать пониженной или минимальной эфекторной функцией. Минимальная эфекторная функция может являться результатом снижающей эфекторную функцию мутации в Fc-области. Снижающая эфекторную функцию мутация в Fc-области может представлять собой N297A.

15 Кроме того, в настоящем описании представлен вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, клетка-хозяин, содержащая вектор. Клетка хозяин может представлять собой эукариотическую клетку. Клетка-хозяин может представлять собой клетку млекопитающего. Клетка-хозяин может представлять собой клетку яичника китайского хомячка (CHO). Клетка-хозяин может представлять собой прокариотическую клетку.

20 Клетка-хозяин может представлять собой клетку *E. coli*. Кроме того, в настоящем описании представлен способ получения антитела к PD-L1, заключающийся в том, что культивируют указанную выше клетку-хозяина в условиях, пригодных для экспрессии вектора, кодирующего антитело к PD-L1 или антигенсвязывающий фрагмент, и выделяют антитело или фрагмент.

25 Ниже описаны более подробно представленные в настоящем описании средства и способы лечения рака и/или ракового пациента.

Таким образом, настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) (типа трастузумаба) и ингибитор лиганда программированной клеточной гибели -1 (PD-L1) (типа антитела 30 к PD-L1, указанного в настоящем описании), предназначеннной для применения для лечения рака, если установлено, что рак характеризуется низким уровнем или у него отсутствует экспрессия ER и характеризуется повышенным уровнем экспрессии лиганда программируемой клеточной гибели-1 (PD-L1) по сравнению с контролем. Рак может характеризоваться пониженным уровнем экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) по 35 сравнению с контролем. Фармацевтическая композиция может содержать также химиотерапевтическое средство (типа таксола или производного таксола, такого как додетаксел (Taxotere®)).

Согласно вышесказанному в настоящем изобретении предложен способ лечения рака, заключающийся в том, что вводят в эффективном количестве модулятор пути 40 передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), химиотерапевтическое средство и ингибитор лиганда программируемой клеточной гибели-1 (PD-L1) индивидууму, который нуждается в этом. Рак может характеризоваться пониженным уровнем экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) по сравнению с контролем.

В настоящем изобретении предложены модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и ингибитор лиганда программируемой клеточной гибели-1 (PD-L1), 45 предназначенные для лечения рака, если установлено, что рак характеризуется низким уровнем или у него отсутствует экспрессия ER и характеризуется повышенным уровнем экспрессии лиганда программируемой клеточной гибели-1 (PD-L1) по сравнению с

контролем. Кроме того, в настоящем изобретении предложены модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и ингибитор лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) и химиотерапевтическое средство (типа таксола или производного таксола, такого как додетаксел (Taxotere®)), предназначенные для лечения рака, если

5 установлено, что рак обладает низким уровнем или у него отсутствует экспрессия ER и обладает повышенным уровнем экспрессии лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) по сравнению с контролем. Рак может характеризоваться пониженным уровнем экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) по сравнению с контролем.

Как описано выше, в настоящем изобретении предложен способ лечения рака у 10 ракового пациента, которому показана терапия, включающая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, заключающийся в том, что отбирают ракового пациента, для которого установлено, что рак характеризуется низким уровнем или у него отсутствует экспрессия ER и характеризуется повышенным уровнем экспрессии лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) по 15 сравнению с контролем, и вводят пациенту в эффективном количестве модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), химиотерапевтическое средство и ингибитор лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1). Аналогично этому, в настоящем изобретении предложен способ лечения рака у ракового пациента, который подвергается терапии, включающей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu 20 (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, заключающийся в том, что отбирают ракового пациента, для которого установлено, что рак характеризуется низким уровнем или у него отсутствует экспрессия ER и характеризуется повышенным уровнем экспрессии лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) по сравнению с контролем, и вводят пациенту в эффективном количестве ингибитор лиганда программированной 25 клеточной гибели-1 (PD-L1).

Все пояснения и определения представленные в настоящем описании для «рака», «ракового пациента», «ингибитора PD-L1», «терапии с использованием ингибитора PD-L1», «модулятора пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2)», «химиотерапевтического средства», «низкого уровня или отсутствия экспрессии ER», 30 «повышенного уровня экспрессии лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1)», «пониженного уровня экспрессии интерферона-гамма (IFN- $\gamma$ )» и т.п. применимы с соответствующими изменениями к описанным выше объектам настоящего изобретения.

Понятия «лечение», «лечить» и т.п. в контексте настоящего описания, в целом, 35 означают получение требуемого фармакологического и/или физиологического действия. Действие может быть профилактическим в понятиях полного или частичного предупреждения заболевания или симптомов и/или терапевтическим в понятиях частичного или полного излечивания заболевания и/или побочных действий, связанных с заболеванием. В контексте настоящего описания под понятие «лечение» подпадают 40 любые варианты лечения заболевания у пациента, и оно включает: (а) предупреждение заболевания у пациента, который может быть предрасположен к заболеванию; (б) ингибирование заболевания, т.е. прекращение его развития; или (в) ослабление заболевания, т.е. обеспечение регресса заболевания.

«Пациент» для целей настоящего изобретения включает как людей, так и других 45 животных, прежде всего млекопитающих, и другие организмы. Так, способы можно применять как для лечения людей, так и в ветеринарии. Предпочтительно пациент представляет собой человека.

Ниже более подробно описаны лечение/терапия согласно настоящему изобретению

этих пациентов/этой группы пациентов.

Фармацевтическую композицию следует приготавливать и дозировать в соответствии с надлежащей клинической практикой с учетом клинического состояния индивидуального пациента, области введения фармацевтической композиции, способа введения, схемы введения и других факторов, известных практикующим специалистам. «Эффективное количество» фармацевтической композиции для целей настоящего описания определяют с учетом указанных положений.

Специалисту в данной области известно, что эффективное количество любого(ых) из указанных ингибитора(ов) PD-L1, модулятора(ов) пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтического(их) средства(в) в фармацевтической композиции, вводимой индивидууму, должно среди прочего зависеть от природы соединения. Например, если указанное соединение представляет собой (поли)пептид или белок, то общее фармацевтически эффективное количество фармацевтической композиции, вводимой парентерально, на дозу должно составлять примерно от 1 мкг белка/кг/день до 10 мг белка/кг веса тела пациента/день, хотя, как отмечалось выше, это должно определяться терапевтической необходимостью. Более предпочтительно эта доза составляет по меньшей мере 0,01 мг белка/кг/день и наиболее предпочтительно для людей применять примерно от 0,01 и до 1 мг белка/кг/день.

В случае трастузумаба можно применять следующие варианты введения:

Позология (дозология) и метод введения

Тестиирование HER2 является обязательным до начала терапии. Лечение герцептином можно начинать только по решению лечащего врача, имеющего опыт в области применения цитотоксической химиотерапии.

Метастатический рак молочной железы (МВС)

Трехнедельная схема

Рекомендованная начальная ударная доза составляет 8 мг/кг веса тела.

Рекомендованная поддерживающая доза, вводимая с трехнедельными интервалами, составляет 6 мг/кг веса тела, начиная через 3 недели после введения ударной дозы.

Еженедельная схема

Рекомендованная начальная ударная доза герцептина составляет 4 мг/кг веса тела.

Рекомендованная еженедельная поддерживающая доза герцептина составляет 2 мг/кг веса тела, начиная через 1 неделю после введения ударной дозы.

Введение в сочетании с паклитакселом или доцетакакселом

В основных исследованиях (H0648g, M77001) паклитаксел или доцетакаксел вводили

через 1 день после первой дозы герцептина (касательно доз см. сводную характеристику препарата (Summary of Product Characteristics) для паклитаксела или доцетакаксела) и немедленно после последующих доз герцептина, если предыдущая доза герцептина хорошо переносилась.

Введение в сочетании с ингибитором ароматазы

В основном исследовании (BO16216) герцептин и анастрозол вводили, начиная со дня 1. Не накладывались ограничения на время обработки герцептином и анастрозолом (касательно доз см. сводную характеристику препарата (Summary of Product Characteristics) для анастрозола или других ингибиторов ароматазы).

Ранний (операбельный) рак молочной железы (ЕВС)

Трехнедельная и недельная схема

В трехнедельной схеме рекомендованная начальная ударная доза герцептина составляет 8 мг/кг веса тела. Рекомендованная поддерживающая доза, вводимая с трехнедельными интервалами, составляет 6 мг/кг веса тела, начиная через 3 недели

после введения ударной дозы.

При еженедельной схеме (начальная ударная доза составляет 4 мг/кг, после чего еженедельно вводят дозу, составляющую 2 мг/кг) одновременно с паклитакселом с последующей химиотерапией доксорубицином и циклофосфамидом.

5 (см. раздел 5.1. касающийся дозирования комбинированной химиотерапии).

Метастатический рак желудка (MGC)

Трехнедельная схема

Рекомендованная начальная ударная доза составляет 8 мг/кг веса тела.

Рекомендованная поддерживающая доза, вводимая с трехнедельными интервалами, 10 составляет 6 мг/кг веса тела, начиная через 3 недели после введения ударной дозы.

Рак молочной железы (MBC и EBC) и рак желудка (MGC)

Продолжительность лечения

Пациентов с MBC или MGC можно лечить герцептином до прогрессирования заболевания. Пациентов с EBC можно лечить герцептином в течение 1 года или вплоть 15 до рецидива болезни, в зависимости от того, что наступает первым.

Снижение доз

Во время клинических испытаний не снижали дозу герцептина. Пациентов можно продолжать лечить в течение периодов обратимой индуцированной химиотерапией миелосупрессии, но в этот период времени требуется осуществлять тщательный 20 мониторинг осложнений в виде нейтропении (см. в сводной характеристике препарата (Summary of Product Characteristics) информацию касательно снижения доз или задержки их применения для паклитаксела, доцетаксела или ингибитора ароматазы).

Пропущенные дозы

Если пациент пропустил дозу герцептина на 1 неделю или меньше, то ему максимально 25 быстро следует ввести обычную поддерживающую дозу (еженедельная схема: 2 мг/кг; трехнедельная схема: 6 мг/кг). Не следует ожидать следующего запланированного цикла. Последующие поддерживающие дозы (еженедельная схема: 2 мг/кг; трехнедельная схема: 6 мг/кг) затем следует вводить согласно применяемой ранее схеме.

Если пациент пропустил дозу герцептина более чем на 1 неделю, то ему следует 30 вводить в течение примерно 90 мин повторную ударную дозу (еженедельная схема: 4 мг/кг; трехнедельная схема: 8 мг/кг). Затем, начиная с этого момента, следует вводить поддерживающие дозы герцептина (еженедельная схема: 2 мг/кг; трехнедельная схема: 6 мг/кг) (еженедельная схема: каждую неделю; трехнедельная схема: каждые 3 недели)

Конкретные популяции пациентов

35 Клинические данные продемонстрировали, что распределение герцептина не изменяется в зависимости от возраста и уровня креатинина в сыворотке. В клинических испытаниях престарелые пациенты не получали пониженные дозы герцептина. Не были проведены специальные фармакокинетические испытания на престарелых пациентах и пациентах с почечной или печеночной недостаточностью. Однако в популяционном 40 фармакокинетическом анализе установлено, что возраст и почечная недостаточность не влияли на распределение трастузумаба.

Метод введения

Ударную дозу герцептина следует вводить в виде 90-минутной внутривенной инфузии. Не следует осуществлять введение в виде внутривенного импульсного введения или в 45 виде болюса. Внутривенную инфузию герцептина должно осуществлять лицо, обеспечивающее медико-санитарную помощь, подготовленное для контроля за анафилактической реакцией, и имеющее доступный набор для выхода из наркоза. Пациенты должны наблюдаться по меньшей мере в течение 6 ч после начала первой

инфузии и в течение 2 ч после начала последующих инфузий в отношении симптомов типа лихорадки и озноба или других связанных с инфузией симптомов (см. разделы 4.4 и 4.8). Прерывание или замедление скорости инфузии может способствовать контролю указанных симптомов. Инфузию можно продолжать после уменьшения симптомов.

5 Если начальная ударная доза хорошо переносилась, то последующие дозы можно вводить в виде 30-минутной инфузии. Фармацевтические композиции, предлагаемые в изобретении, можно применять парентерально.

Фармацевтические композиции, предлагаемые в изобретении, предпочтительно содержат фармацевтически приемлемый носитель. Под «фармацевтически приемлемым носителем» подразумевается нетоксичный твердый, полутвердый или жидкий наполнитель, разбавитель, капсулирующий материал или вспомогательное вещество любого типа. Понятие «парентеральный» в контексте настоящего описания относится к путям введения, которые включают внутривенную, внутримышечную, внутрибрюшинную, надчревную, подкожную и внутрисуставную инъекцию и инфузию.

10 Введение представленных в настоящем описании композиций может среди прочего включать введение дважды в день, каждый день, каждые два дня, каждые три дня, каждые четыре дня, каждые пять дней, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в месяц и т.д.

Фармацевтическую композицию можно вводить также с помощью систем для замедленного высвобождения. Приемлемые примеры композиций с замедленным высвобождением включают полупроницаемые полимерные матрицы в форме изделий определенной формы, например, пленок, микрокапсул. Матрицы с замедленным высвобождением включают полилактиды (US 3773919, EP 58481), сополимеры L-глутаминовой кислоты и гамма-этил-L-глутамата (Sidman U. и др., Biopolymers 22, 1983, сс. 547-556), поли(2-гидроксиэтилметакрилат) (R. Langer и др., J. Biomed. Mater. Res. 15, 1981, сс. 167-277 и R. Langer, Chem. Tech. 12, 1982, сс. 98-105), этиленвинилацетат (R. Langer и др., выше) или поли-D-(-)-3-гидроксимасляную кислоту (EP 133988).

Фармацевтическая композиция с замедленным высвобождением включает также заключенное в липосому соединение. Липосомы, содержащие фармацевтическую композицию, получают хорошо известными методами: DE 3218121; Epstein и др., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 82, 1985, сс. 3688-3692; Hwang и др., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 77, 1980, сс. 4030-4034); EP 52322; EP 36676; EP 88046; EP 143949; EP 142641; заявка на японский патент 83-118008; US 4485045 и 4544545 и EP 102324. Как правило, липосомы представляют собой небольшие (примерно 200-800 Å) структуры однослойного типа, в которых более примерно 30 мол. % от содержания липидов приходится на долю холестерина, выбранная пропорция является наиболее оптимальной для терапии.

Для парентерального введения фармацевтическую композицию приготавливают, как правило, путем смешения ее, имеющей требуемую степень чистоты, с получением стандартной дозы инъецируемой формы (раствор, суспензия или эмульсия) с фармацевтически приемлемым носителем, т.е. с соединением, нетоксичным для реципиента в применяемых дозах и концентрациях и совместимым с другими ингредиентами препаративной формы.

Как правило, препаративные формы получают путем приведения в тесный и однородный контакт компонентов фармацевтической композиции с жидкими носителями или тонкоизмельченными твердыми носителями или с носителями обоих типов. Затем, если это является необходимым, продукт формуют с получением требуемой препаративной формы. Предпочтительно носитель представляет собой носитель, пригодный для парентерального применения, более предпочтительно раствор,

изотоничный крови. Примеры указанных наполнителей-носителей включают воду, физиологический раствор, раствор Рингера и раствор декстрозы. Согласно настоящему изобретению пригодными являются также неводные наполнители, такие как нелетучие масла и этилолеат, а также липосомы. Носитель может содержать минорные количества

- 5 добавок, таких как субстанции, повышающие изотоничность и химическую стабильность. Указанные продукты являются нетоксичным для реципиента в применяемых дозах и концентрациях и включают буферы, такие как фосфатный, цитратный, сукцинатный, на основе уксусной кислоты и других органических кислот и их солей; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота; низкомолекулярные 10 (состоящие менее чем из 10 остатков) (поли)пептиды, например, полиаргинин или трипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинил пиррол и дон; аминокислоты, такие как глицин, глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота или аргинин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая целлюлозу или ее производные, глюкозу, 15 маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТК; сахарные спирты, такие как манит или сорбит; противоионы, такие как натрий и/или неионогенные поверхности-активные вещества, такие как полисорбаты, полоксамеры или ПЭГ.

Компоненты фармацевтической композиции, подлежащей терапевтическому введению, должны быть стерильными. Для достижения стерильности можно

- 20 осуществлять фильтрацию через стерильные фильтрующие мембранны (например, мембранны с размером пор 0,2 мкм). Терапевтические компоненты фармацевтической композиции, как правило, помещают в контейнер со стерильным портом доступа, например, в мешок для внутривенного раствора или пузырек с пробкой, проницаемой для иглы для подкожной инъекции.

- 25 Компоненты фармацевтической композиции, как правило, следует хранить в однодозовых или многодозовых контейнерах, например, запечатанных ампулах или пузырьках, в виде водного раствора или в виде лиофилизированной препаративной формы, подлежащей восстановлению. В качестве примера лиофилизированной препартивной формы 10-миллилитровые флаконы заполняют 5 мл стерилизованного 30 фильтрацией 1% (мас./об.) водного раствора и полученную смесь лиофилизируют. Раствор для инфузии приготавливают путем восстановления лиофилизированного(ых) соединения(ий) с помощью бактериостатической воды для инъекций.

В настоящем описании предложено лечение рака, включающее применение модулятора пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), ингибитора лиганда

- 35 программируемой клеточной гибели-1 (PD-L1) и химиотерапевтического средства (типа таксола или производного таксола, такого как додетаксел (Taxotere®)), которое можно осуществлять путем одновременного, последовательного или раздельного введения индивидууму компонентов указанного лечения. Например, один или несколько модулятор(ов) пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), указанный(ых) в настоящем 40 описании (типа трастузумаба), можно вводить одновременно с одним или несколькими указанным(ми) в настоящем описании ингибитором(ами) лиганда программируемой клеточной гибели-1 (PD-L1) (типа предложенных и указанных в настоящем описании антител к PD-L1). Кроме того, согласно настоящему изобретению можно осуществлять последовательное введение модулятора(ов) пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), 45 указанного(ых) в настоящем описании (типа трастузумаба) и одного или нескольких указанного(ых) в настоящем описании ингибитором(ов) лиганда программируемой клеточной гибели-1 (PD-L1) (типа предложенных и указанных в настоящем описании антител к PD-L1). Согласно настоящему описанию указанные модуляторы пути передачи

сигналов HER2/neu (ErbB2), указанные в настоящем описании (типа трастузумаба), и один или несколько указанный(ые) в настоящем описании ингибитор(ы) лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) (типа предложенных и указанных в настоящем описании антител к PD-L1), можно применять также раздельно. Например, 5 один или несколько модулятор(ов) пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), указанный(ые) в настоящем описании (типа трастузумаба), можно применять на первой стадии с последующим введением на второй стадии одного или нескольких указанного(ые) в настоящем описании ингибитора(ов) лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) (типа предложенных и указанных в настоящем описании антител к PD-L1) и 10 наоборот. Аналогично этому, химиотерапевтическое средство можно применять одновременно, последовательно или раздельно. Под объем настоящего изобретения подпадает любая комбинация одновременного, последовательного или раздельного введения модулятора(ов) пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), ингибитора(ов) лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) и химиотерапевтического(их) 15 средства(в) (типа таксола или производного таксола, такого как додетаксел (Taxotere®)).

Представленное в настоящем описании лечение рака, включающее модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), ингибитор лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) и химиотерапевтическое средство (типа таксола или производного таксола, такого как додетаксел (Taxotere®)), можно применять в качестве единственной 20 терапии. Однако ее можно применять с одной или несколькими другими терапиями (т.е. в виде дополнительной совместной терапии с ними), например, с общепринятыми путями лечения, такими как хирургия, лучевая терапия и/или применение одного или нескольких дополнительного(ые) химиотерапевтического(их) средства(в).

Хирургия может включать стадию частичной или полной резекции опухоли до, в 25 процессе или после применения предложенного в настоящем описании лечения рака, включающего модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), ингибитор лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) и химиотерапевтическое средство (типа таксола или производного таксола, такого как додетаксел (Taxotere®)).

Представленные в настоящем описании модулятор пути передачи сигналов HER2/neu 30 (ErbB2), ингибитор лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) и химиотерапевтическое средство (типа таксола или производного таксола, такого как додетаксел (Taxotere®)) можно применять в неоадъювантном или адъювантном режиме (в частности неоадъювантного или адъювантного лечения рака).

Модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), химиотерапевтическое средство 35 и ингибитор лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) можно применять в неоадъювантном режиме. Модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), химиотерапевтическое средство и ингибитор лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) можно применять в адъювантном режиме или для лечения метастазов.

Таким образом, предложенные в настоящем описании модулятор пути передачи 40 сигналов HER2/neu (ErbB2), ингибитор лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) и химиотерапевтическое средство (типа таксола или производного таксола, такого как додетаксел (Taxotere®)) можно вводить пациенту, нуждающемуся в таком лечении, в процессе или после хирургического вмешательства/резекции раковой ткани. Таким образом, в настоящем изобретении предложена неоадъювантная терапия, т.е. 45 лечение с помощью представленной в настоящем описании терапии пациента/группы пациентов, нуждающегося(ихся) в этом, перед хирургическим вмешательством.

Указанную терапию можно использовать также в качестве адъювантной терапии (т.е. после хирургического вмешательства).

Предназначенное для применения согласно настоящему изобретению химиотерапевтическое средство предпочтительно представляет собой таксан (понятие «таксол» в контексте настоящего описания применяют взаимозаменяемо с понятием «таксан») или производное таксана (производное таксола), типа додетаксела (Taxotere®) или паклитаксела. В контексте настоящего описания наиболее предпочтительно применять додетаксел/(Taxotere®).

(Дополнительное(ые)) химиотерапевтическое(ие) средство(а) может(гут) представлять собой одно или несколько из следующих, приведенных в качестве не ограничивающих объем изобретения примеров, лекарственных средств или агентов:

10 цисплатин, винорелбин, карбоплатин, паклитаксел, гемцитабин, доцетакаксел, бевацизумаб, пеиетрексед, этопозид, иринотекан, ифосфамид, топотекан;

антиангиогенное(ые) средство(а) типа блокатора VEGF (такого как бевацизумаб/авастин или сутент (сунитиниба малат-SU-11248)), линомид, ингибиторы функции интегрина  $\alpha v \beta 3$ , ангиостатин, разоксин, талидомид и, включая агенты сосудистой 15 направленности (например, комбреастатина фосфат или N-ацетилколхинол-О-фосфат));

цитостатическое(ие) средство(а), типа антиэстрогенов (например, тамоксифен, торемифен, ралоксифен, дролоксифен, йодоксифен), прогестогены (например, мегестрола ацетат), ингибиторы ароматазы (например, анастразол, летразол, воразол, экземестан), антипрогестогены, антиандрогены (например, флутамид, нилутамид, бикалутомид,

20 ципротерона ацетат, агонисты и антагонисты LHRH (например, гозерелина ацетат, лупролид), ингибиторы тестостерон-5 $\alpha$ -дигидроредуктазы (например, финастерид), антиинвазионные средства (например, ингибиторы металлопротеиназ типа маримастата и ингибиторы функции рецептора урокиназного активатора плазминогена) и ингибиторы функции фактора роста (указанные факторы роста включают, например,

25 тромбоцитарный фактор роста и гепатоцитарный фактор роста, указанные ингибиторы включают антитела к факторам роста, антитела к рецепторам факторов роста, ингибиторы тирозинкиназ и ингибиторы сериновой/треониновой киназы);

30 модификаторы биологического ответа (например, интерферон); антиметаболическое (ие) средство(а) (например, гемцитабин); антигормональное(ые) соединения(е), такое (ие) как антиэстроген(ы); антитела (например, эдреколомаб); адьювантная(ые) (анти) гормональная(ые) терапия(и) (т.е. терапия с использованием адьювантного(ых) (анти) гормонального(ых) лекарственного средства(в), например, тамоксифена; подходы на основе генной терапии (типа антисмысловых терапий); и/или подходы на основе иммунотерапии.

35 Химиотерапия может включать также (дополнительно) применение одного или нескольких антипалифративных/антинеопластических лекарственных средств и их комбинаций, применяемых в медицинской онкологии, таких как ингибитор(ы) тирозинкиназ, ингибитор(ы) raf, ингибитор(ы) ras, двойной(ые) ингибитор(ы) тирозинкиназ, таксол, таксан(ы) (типа паклитаксела или доцетакаксела), антрациклин

40 (ы) типа доксорубицина или эпирюбицина, ингибиторы ароматазы (такие как анастразол или летразол) и/или винорелбин; циклофосфамид, метотрексат или фторурацил (который обозначают также как 5-FU), которые можно использовать в указанной совместной терапии индивидуально или в форме совместной терапии, включающей указанные три лекарственных средства («CMF-терапия»), необязательно в сочетании с любыми другими

45 представленными в настоящем описании дополнительными терапиями. Конкретными примерами химиотерапевтических средств, предназначенных для применения в сочетании с совместной терапией, предлагаемой в настоящем изобретении, являются пеметрексед, ралитрексед, этопозид, винорелбин, паклитаксел, доцетакаксел, цисплатин,

оксалиплатин, карбоплатин, гемцитабин, иринотекан (СРТ-1 1), 5-фторурацил (5-ФУ, включая капецитабин)), доксорубицин, циклофосфамид, темозоломид, гидроксимочевина, антипролиферативные/антинеопластические лекарственные средства и их комбинации, применяемые в медицинской онкологии, такие как антиметаболиты (например, антифолаты типа метотрексата, фторпиримидины типа 5-фторурацила, аналоги пурина и аденоцина, цитозинарабинозид); противоопухолевые антибиотики (например, антрациклины типа доксорубицина, дауномицина, эпирубицина и идарубицина, митомицина-С, дактиномицина, митрамицина); производные платины (например, цисплатин, карбоплатин); алкилирующие вещества (такие, например, как производные азотистых ипритов, мелфалан, хлорамбуцил, бусульфан, циклофосфамид, ифосфамид, нитрозомочевины, тиотепа); антимитотические средства (например, алкалоиды барвинака типа винкристина и таксойды типа таксола, таксотера); ингибиторы топоизомеразы (например, эпиподофиллотоксины типа этопозида и тенипозида, амсакрина, топотекана, а также иринотекана); а также ферменты (например, аспарагиназа); и ингибиторы тимилилатсинтазы (например, ралтитрексед) и дополнительные типы химиотерапевтических средств.

Ингибиторы/модуляторы/химиотерапевтические средства, предназначенные для применения согласно настоящему изобретению, указаны в настоящем описании и, как правило, представляют собой известные и/или поступающие в продажу ингибиторы/модуляторы/химиотерапевтические средства. Однако также согласно настоящему изобретению подразумевается применение ингибиторов, которые еще будут созданы, или известных соединений, которые будут протестированы в отношении их ингибирующей активности.

Следующим объектом настоящего изобретения является применение нуклеиновой

25 (ых) кислоты(т) или антитела(антител), с помощью которых можно оценивать уровень экспрессии ER, PD-L1 и необязательно IFN $\gamma$ , для определения потребности пациента в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1 в сочетании с модулятором пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическим средством.

Соответствующие объяснения этих понятий представлено выше и их применяют с 30 соответствующими изменениями.

Предпочтительно нуклеиновая кислота (например, олигонуклеотид(ы) состоит(ят) примерно из 15-100 нуклеотидов. Специалист в данной области на основе его общих знаний и представленных в настоящем описании сведений, легко может идентифицировать и/или получать олиго- или полинуклеотид, обладающий

35 способностью определять уровень экспрессии ER, PD-L1 и необязательно IFN $\gamma$ . В частности эту(и) нуклеиновую(ые) кислоту(ы) (например, олиго- или полинуклеотиды) можно применять в качестве зонда(ов) в способах, представленных в настоящем описании, например, при измерении уровня экспрессии. Специалисту в данной области должны быть известны, например, компьютерные программы, которые можно

40 применять для идентификации соответствующих зондов, которые можно применять согласно изобретению. Например, нуклеиновую кислоту, кодирующую рецептор эстрогена (или часть нуклеиновой кислоты) (например, SEQ ID NO: 38), нуклеиновую кислоту, кодирующую PD-L1 (или часть нуклеиновой кислоты) (например, SEQ ID NO: 42) и необязательно нуклеиновую кислоту, кодирующую IFN $\gamma$  (или часть нуклеиновой

45 кислоты) (например, SEQ ID NO: 44) можно применять в контексте настоящего описания для идентификации специфических зондов для определения уровня экспрессии ER, PD-L1 и IFN $\gamma$  соответственно. Примеры нуклеотидных последовательностей, кодирующих ER, PD-L1 и IFN $\gamma$ , доступны в соответствующих базах данных, таких как база данных

NCBI (см. на сайте [www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez)).

Кроме того, в настоящем описании представлена композиция, представляющая собой диагностическую композицию, которая дополнительно необязательно содержит средства детекции/определения/оценки уровня экспрессии ER, PD-L1 и IFN $\gamma$ .

5 Вышеуказанные средства детекции представляют собой, например, вышеописанные нуклеотиды и/или антитела. Таким образом, настоящее изобретение относится к таким средствам (например, указанным нуклеотидам и/или антителам), предназначенным для получения диагностической композиции, предназначенной для определения потребности пациента в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1.

10 Альтернативным объектом настоящего изобретения являются указанные средства детекции (например, описанные выше нуклеиновые кислоты и/или антитела, и/или «связывающие молекулы», описанные ниже в связи с набором, который можно применять согласно настоящему изобретению), предназначенные для применения для определения потребности пациента в совместной терапии с использованием ингибитора

15 PD-L1.

Предпочтительно настоящее изобретение относится к антителу/антителам, предназначенному(ым) для применения для определения потребности пациента в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1.

Кроме того, настоящее изобретение относится также к набору, который можно 20 применять для осуществления предложенных способов, где набор содержит нуклеиновую кислоту или антитело, которые можно применять для определения уровня экспрессии ER, PD-L1 и необязательно IFN $\gamma$ . Под объем изобретения подпадает также применение представленного в настоящем описании набора для осуществления предлагаемых способов. Указанный набор, который можно применять для 25 осуществления способов и вариантов применения, указанных в настоящем описании, может содержать олигонуклеотиды или полинуклеотиды, которые могут определять уровень экспрессии ER, PD-L1 и необязательно IFN $\gamma$ . Например, указанный набор может содержать соединение(я), требуемое(ые) для специфического измерения уровня экспрессии ER, PD-L1 и необязательно IFN $\gamma$ . Кроме того, настоящее изобретение 30 относится также к применению соединения(ий), требуемого(ых) для специфического измерения уровня экспрессии ER, PD-L1 и необязательно IFN $\gamma$ , для приготовления набора для осуществления способов и вариантов применения, предлагаемых в настоящем изобретении. На основе доктрины настоящего изобретения специалисту в данной области очевидно, какое(ие) соединение(ия) требуется(ются) для специфического 35 измерения уровня экспрессии ER, PD-L1 и необязательно IFN $\gamma$ . Например, указанное (ые) соединение(я) может(гут) представлять собой «связывающую(ие) молекулу(ы)». В частности, такое(ие) соединение(я) может(гут) представлять собой (нуклеотидный (ые) зонд(ы), праймер(ы) (пара(ы) антител и/или аптамеров, специфических для (генного) продукта гена/кодирующей последовательности ER, гена/кодирующей 40 последовательности PD-L1 и необязательно гена/кодирующей последовательности IFN $\gamma$ . Набор (в данном контексте подлежащий приготовлению), предлагаемый в настоящем изобретении, может представлять собой диагностический набор.

Набор (в данном контексте подлежащий приготовлению), предлагаемый в настоящем изобретении, или способы и варианты применения, предлагаемые в изобретении, могут 45 дополнительно содержать инструкцию(и) по применению или могут поставляться вместе с ними. Например, указанная(ые) инструкция(ии) по применению может(гут) являться руководством для специалиста в данной области по определению (референс-/контрольного) уровня экспрессии ER, PD-L1 и необязательно IFN $\gamma$  или по определению

потребности пациента в терапии с использованием ингибитора PD-L1. В частности, указанная(ые) инструкция(ии) по применению может(гут) содержать руководство, касающееся применения и приложения представленных в настоящем описании способов или вариантов применения. Набор (в данном контексте подлежащий приготовлению),  
 5 предлагаемый в настоящем изобретении, может содержать также субстанции/химические соединения и/или оборудование, пригодные/требуемые для осуществления способов и вариантов применения настоящего изобретения. Например, указанные субстанции/химические соединения и/или оборудование представляют собой растворители, разбавители и/или буферы для стабилизации и/или хранения соединения(ий), требуемого  
 10 (ых) для специфического измерения уровня экспрессии ER, PD-L1 и необязательно IFN $\gamma$ .

В контексте настоящего описания понятия «содержащий» и «включающий» или их грамматические варианты следует рассматривать как понятия, определяющие указанные признаки, целые числа, стадии или компоненты, но не исключающие добавление одного или нескольких из дополнительных признаков, целых чисел, стадий, компонентов или  
 15 групп. Это понятие включает понятия «состоит из» и «практически состоит из». Таким образом, понятия «содержащий/включающий/имеющий» предусматривают, что может присутствовать любой дополнительный компонент (или также особенности, целые числа, стадии и т.п.).

Понятие «состоящий из» означает, что не может присутствовать никакой

20 дополнительный компонент (или также особенности, целые числа, стадии и т.п.).

Понятие «практически состоящий из» или его грамматические варианты в контексте настоящего описания следует рассматривать как понятия, определяющие указанные признаки, целые числа, стадии или компоненты, но не исключающие добавление одного или нескольких их дополнительных признаков, целых чисел, стадий, компонентов или  
 25 групп, но только, если их дополнительные особенности, целые числа, стадии, компоненты или группы не изменяют существенно основу или новые характеристики заявляемой композиции, устройства или способа. Так, понятие «практически состоящий из» означает, что указанные дополнительные компоненты (или также особенности, целые числа, стадии и т.п.) могут присутствовать, а именно те из них, которые не  
 30 оказывают существенного влияния на основные характеристики композиции, способа или устройства. Другими словами, понятие «практически состоящий из» (которое в контексте настоящего описания можно применять взаимозаменяя с понятием «практически содержащий») допускает присутствие других компонентов в композиции, устройстве, способе помимо обязательных компонентов (или также особенностей, целых чисел, стадий и т.п.), при условии, что основные характеристики устройства или  
 35 способа не существенно изменяются из-за присутствия других компонентов.

Понятие «метод» относится к порядку действия, средствам, технологиям и процедурам, предназначенным для решения данной задачи, включая (но, не ограничиваясь только ими) те порядки действия, средства, технологии и процедуры,  
 40 которые либо известны или легко создаются на основе известных порядков действий, средств, технологий и процедур практикующими специалистами в области химии, биологии и биофизики.

В контексте настоящего описания понятие «выделенный» относится к композиции, которая отделена от ее места нахождения *in vivo* (например, водного организма или  
 45 мха). Предпочтительно выделенные композиции, предлагаемые в настоящем изобретении, практически свободны от других субстанций (например, от других белков, которые не обладают антиадгезивными действиями), которые присутствуют в месте их нахождения *in vivo* (т.е. являются очищенными или полуочищенными).

В контексте настоящего изобретения понятие «примерно» означает  $\pm 10\%$ .

Следующими объектами настоящего изобретения являются также:

1. Способ определения потребности ракового пациента в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1,

5 (I) в котором терапия, включающая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, показана для пациента, или (II) в котором пациент подвергается терапии, включающей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, заключающийся в том, что осуществляют стадии, на которых

10 а) измеряют *in vitro* в образце из организма указанного пациента уровень экспрессии рецептора эстрогена (ER) и лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1),

б) классифицируют пациента как нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, если измеренные на стадии (а) уровень экспрессии ER является низким или она отсутствует и уровень экспрессии лиганда

15 программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1) является повышенным по сравнению с контролем.

2. Способ лечения рака у ракового пациента, которому показана терапия, включающая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, заключающийся в том, отбирают ракового пациента,

20 для которого установлено, что рак характеризуется низким уровнем экспрессии ER или ее отсутствием и характеризуется повышенным уровнем экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1) по сравнению с контролем, и вводят пациенту в эффективном количестве модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), химиотерапевтическое средство и ингибитор лиганда программирующей

25 клеточной гибели-1 (PD-L1).

3. Способ лечения рака у ракового пациента, который подвергается терапии, включающей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, заключающийся в том, отбирают ракового пациента, для которого установлено, что рак характеризуется низким уровнем экспрессии ER или ее отсутствием и характеризуется повышенным уровнем экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1) по сравнению с контролем, и вводят пациенту в эффективном количестве ингибитор лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1).

4. Фармацевтическая композиция, содержащая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и ингибитор лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1), предназначенная для применения для лечения рака, если установлено, что указанный рак характеризуется низким уровнем экспрессии ER или ее отсутствием и характеризуется повышенным уровнем экспрессии лиганда программирующей клеточной гибели-1 (PD-L1) по сравнению с контролем.

40 5. Фармацевтическая композиция, предназначенная для лечения рака по п.4, дополнительно содержащая химиотерапевтическое средство.

6. Способ по одному из п.п. 1-3, дополнительно заключающийся в том, что измеряют *in vitro* в образце из организма указанного пациента уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) и классифицируют пациента как нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, если измеренный уровень экспрессии интерферона-гамма (IFN $\gamma$ ) является пониженным по сравнению с контролем.

45 7. Способ по одному из п.п. 1, 2, 3 и 6; или фармацевтическая композиция по п. 4 и п. 5, где уровень экспрессии ER представляет собой ER(-).

8. Способ по одному из п.п. 1, 2, 3, 6 и 7; или фармацевтическая композиция по одному из п.п.4, 5 и 7, где указанный модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) представляет собой антитело к HER2 герцептин/трастузумаб.

9. Способ по одному из п.п. 1, 2, 3, 6, 7 и 8; или фармацевтическая композиция по

5 одному из п.п. 5, 7 и 8, где указанное химиотерапевтическое средство представляет собой таксол или производное таксола.

10. Способ по одному из п.п. 1, 2, 3, 6, 7 и 8-9; или фармацевтическая композиция по одному из п.п.4, 5 и 7-9, где указанный ингибитор лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) представляет собой антитело, специфически связывающееся с PD-L1 (антитело к PD-L1).

11. Способ по одному из п.п. 1, 2, 3 и 6-10; или фармацевтическая композиция по одному из п.п. 4, 5 и 7-10, где указанный рак представляет собой солидный рак.

12. Способ по п.11; или фармацевтическая композиция по п.11, где указанный солидный рак представляет собой рак молочной железы или рак желудка.

15. Способ по одному из п.п. 1, 2, 3 и 6-12; или фармацевтическая композиция по одному из п.п. 4, 5 и 7-12, где уровень экспрессии PD-L1 представляет собой уровень экспрессии мРНК.

20. Способ по одному из п.п. 1, 2, 3 и 6-12; или фармацевтическая композиция по потребности пациента в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1 в сочетании с модулятором пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическим средством.

25. Способ по одному из п.п. 1, 2, 3 и 6-14; или фармацевтическая композиция по одному из п.п.4, 5 и 7-14, в котором указанный модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), указанное химиотерапевтическое средство и указанный ингибитор лиганда программированной клеточной гибели-1 (PD-L1) следует применять в неоадъювантном режиме.

30. Настоящее изобретение дополнительно описано со ссылкой на не ограничивающие изобретение чертежи и примеры. Если не указано иное, то применяют принятые методы рекомбинантной генной технологии, описанные, например, у Sambrook, Russell в: «Molecular Cloning, A Laboratory Manual», Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y., 2001), публикация полностью включена в настоящее описание в качестве ссылки.

На чертежах показано:

35. на фиг. 1 - схематическое изображение структуры белка HER2 и аминокислотные последовательности доменов I-IV соответственно его внеклеточного домена;

40. на фиг. 2А и 2Б - сравнительный анализ первичной структуры аминокислотных последовательностей вариабельного домена легкой ( $V_L$ ) (фиг. 2А) и вариабельного домена тяжелой ( $V_H$ ) (фиг. 2Б) мышного моноклонального антитела 2C4 (SEQ ID NO: 5 и 6 соответственно);  $V_L$  - и  $V_H$ -доменов варианта 574/пертузумаба (SEQ ID NO: 7 и 8 соответственно) и консенсусных каркасных участков человеческих  $V_L$  и  $V_H$  (hum κ1, легкая каппа-цепь, подгруппа I; humIII, тяжелая цепь подгруппа III) (SEQ ID NO: 9 и 10 соответственно). Звездочками обозначены различия между вариабельными доменами пертузумаба и мышного моноклонального антитела 2C4 или между вариабельными 45. доменами пертузумаба и человеческим каркасным участком. Гипервариабельные участки (CDR) взяты в скобки;

на фиг. 3А и 3Б - аминокислотные последовательности легкой цепи (фиг. 3А) и тяжелой цепи (фиг. 3Б) пертузумаба. CDR выделены жирным шрифтом. Рассчитанная

молекулярная масса легкой цепи и тяжелой цепи составляет 2352622 Да и 4921656 Да (цистеины в восстановленной форме). Углеводный остаток присоединен к Asn 299 тяжелой цепи;

на фиг. 4А и 4Б - аминокислотные последовательности легкой цепи (фиг. 4А) и

5 тяжелой цепи (фиг. 4Б) трастузумаба соответственно. Стрелками обозначены пограничные последовательности вариабельного домена легкой цепи и вариабельного домена тяжелой цепи;

на фиг. 5А и 5Б - последовательность легкой цепи варианта пертузумаба (фиг. 5А) и последовательность тяжелой цепи варианта пертузумаба (фиг. 5Б) соответственно.

10 Представленные ниже примеры служат для иллюстрации изобретения.

Пример 1: На раковых пациентов, подвергающихся HER2-направленной терапии и химиотерапии оказывает благоприятное действие совместная терапия с использованием ингибитора PD-L1, если уровень экспрессии ER низкий или она отсутствует (ER-негативный статус) и если уровень экспрессии PD-L1 повышен

15 Изучение генной экспрессии осуществляли с помощью пакета программ R Bioconductor 'affy', R-версия 2.15.0. Все исследовательские анализы и прогностические модели создавали с помощью SAS JMP, версия 10.0.

20 48 биопсий HER2(+)-, ER(+)- и 39 биопсий HER2(+)-, ER(-)-рака молочной железы получали из клинического испытания NeoSphere. Образцы брали у пациентов при установлении диагноза, после чего их лечили доцетакселом и трастузумабом в неоадьювантном режиме. Распределение основных клинических ковариат на исходном (уровне, а также клинический ответ (оцененный при хирургическом вмешательстве) для включенной в испытание популяции является следующим:

ER-негативные образцы:

25 Возраст пациентов (см. фиг. 17)

Квантили

10,0% максимум	72
99,5%	72
97,5%	71,55
30 90,0%	64
75,0% квартиль	54
50,0% медиана	50,5
25,0% квартиль	44,25
10,0%	39
2,5%	34,675
35 0,5%	34
0,0% минимум	34

Тип рака

Уровень	Кол-во	Prob (вероятность)
IBC	2	0,04167
40 LABC (местно-распространенный рак молочной железы)	22	0,45833
Операбельный	24	0,50000
Всего	48	1,00000

рT (патологические стадии опухоли)

Уровень	Кол-во	Prob
T2	18	0,37500
T3	15	0,31250
T4	15	0,31250
Всего	48	1,00000

5 pN (патологические стадии узлов)

Уровень Кол-во Prob		
N0	12	0,25000
N1	36	0,75000
Всего	48	1,00000

10 G (степень дифференцировки злокачественной опухоли)

Уровень Кол-во Prob		
G1	1	0,02083
G2	15	0,31250
G3	16	0,33333
NA	16	0,33333
Всего	48	1,00000

15 ER-позитивные образцы:

Возраст пациентов (см. фиг. 18)

15 Квантили

100,0%	Максимум	74
99,5%		74
97,5%		74
90,0%		65
75,0%	квартиль	57
50,0%	медиана	50
25,0%	квартиль	43
10,0%		40
2,5%		32
0,5%		32
0,0%	минимум	32

25 Типа рака

Уровень	Кол-во	Prob
IBC	5	0,12821
LABC	8	0,20513
Операбельный	26	0,66667
Всего	39	1,00000

30 pT

Уровень Кол-во Prob		
T2	15	0,38462
T3	16	0,41026
T4	8	0,20513
Всего	39	1,00000

35 pN

Уровень Кол-во Prob		
N0	11	0,28205
N1	28	0,71795
Всего	39	1,00000

40 G

Уровень Кол-во Prob		
G2	13	0,33333
G3	10	0,25641
NA	16	0,41026
Всего	39	1,00000

Анализ сопряженности признаков полного патологического ответа (pCR) и статуса рецептора эстрогена (ER)

Ко-во Ряд, %	pCR = нет	pCR = да	
ER = ER(-)	27 56,25	21 43,75	<b>48</b>
ER = ER(+)	33 84,62	6 15,38	<b>39</b>
	<b>60</b>	<b>27</b>	<b>87</b>

10 Профиль генной экспрессии

Определяли профиль генной экспрессии в образцах биопсии опухолей с использованием платформы микромассивов полного человеческого генома AFFYMETRIX HG-U133Plus 2. Использовали набор HighPure для экстракции РНК фирмы Roche, набор для амплификации фирмы NuGen и стандартные протоколы гибридизации и сканирования, прилагаемые к системе AFFYMETRIX. Все сканы массивов, как правило, подвергали контролю качества с помощью стандартной программы AFFYMETRIX QC.

Для предварительной обработки «сырых» сигналов применяли робастный алгоритм для множества массивов (RMA) (Irizarry и др, 2003, см. в сети Интернет на сайте [ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12925520](http://ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12925520)). Все наборы зондов, пригодные для представляющих интерес генов, можно получать как описано ниже. В случае гена CD274, когда для описания этого гена доступно несколько наборов зондов, для описания гена выбирали набор зондов с наиболее высоким средним уровнем экспрессии (который определяли как арифметическое среднее уровней экспрессии данного набора зондов):

25 CD274 (PDL1)

223834\_at выбран для PDL1

227458\_at

Выбранный набор зондов соответствует последнему экзону/3'UTR гена и охватывает все известные RefSeq мРНК (см. фиг. 6).

30 IFNG

210354\_at

Этот набор зондов также соответствует последнему экзону/3'UTR гена и охватывает все известные RefSeq мРНК (см. фиг. 7).

На фиг. 8 представлено связанное распределение экспрессии вышеуказанных генов

35 в образцах обеих ER(-)- и ER(+)-популяций. Типы символов соответствуют конечному статусу pCR (закрашенные символы: pCR достигнут, незакрашенные символы: pCR не достигнут).

Более подробные сведения о распределении CD274 и экспрессии IFNG среди страт ER и pCR представлены в приложении I.

40 Для каждой ER-субпопуляции создавали логистическую регрессионную модель, связывающую экспрессию выбранных генов с клиническим ответом, в зависимости от возраста пациента, типа рака и состояния узлов:

Ответ ~ возраст пациента + тип рака + pN + CD274 + IFNG

1. ER(-)-популяция

45 Ниже представлены обобщенные выходные данные для модели. Отношения шансов (OR) представлены на единицу изменения уровня биомаркера. Поскольку величины экспрессии даны в log2-масштабе, то изменение на одну единицу должно соответствовать 2-кратной сверхэкспрессии. Более подробное описание см. в приложении.

Показатель	ER(-)-популяция	
	OR (95% CI)	LR-критерий, р-значение
CD274	5,2 (1,5; 26,7)	0,008
IFNG	0,30 (0,10; 0,74)	0,007
Возраст пациента		0,24
Тип рака		0,91
pN		0,87

Конечная модель для прогнозирования вероятности ответа конкретного пациента на лечения включала экспрессию CD274 и IFNG и представляла собой:

$$p(pCR) = -3,737 + 1,607 * CD274 - 1,069 * IFNG$$

## 2. ER(+)-популяция

Ниже представлены обобщенные выходные данные для модели. Отношения шансов (OR) представлены на единицу изменения уровня биомаркера. Поскольку величины экспрессии даны в log2-Масштабе, то изменение на одну единицу должно соответствовать 2-кратной сверхэкспрессии. Более подробное описание см. в приложении.

Показатель	ER(+)-популяция	
	OR (95% CI)	LR-критерий, р-значение
CD274		0,93
IFNG		0,23
Возраст пациента		0,34
Тип рака		0,39
pN		0,92

Роль экспрессии PDL1 является очевидной в ER(-)-субпопуляции пациентов с HER2 (+)-раком молочной железы, которые подвергались комбинированному лечению трастузумабом и химиотерапией в неоадьювантном режиме. А именно, выявленная при установлении диагноза сверхэкспрессия PDL1 соответствовала более низкому уровню ответа на неоадьювантную терапию (т.е. более низкому уровню ответа на комбинированное лечение трастузумабом и химиотерапией). Это не зависело от возраста пациента, типа рака или статуса лимфатических узлов. Оценка на исходном уровне генной экспрессии любого из двух биомаркеров, PDL1 и IFNG, соответственно позволяла определять вероятность более благоприятного воздействия на пациента PDL-1- направленной терапии, при ее добавлении к трастузумабу и химиотерапии.

Ниже представлены данные, касающиеся отсекающего значения, позволяющего классифицировать пациента, как нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, предлагаемой в настоящем изобретении.

Если анализ генной экспрессии свидетельствует о том, что уровень экспрессии IFNG превышает или равен 4,8, то не рекомендуется никакое совместное лечение (HER2- направленное и PDL1-направленное) и не следует осуществлять какую-либо дополнительную оценку PDL1. Если анализ генной экспрессии свидетельствует о том, что уровень экспрессии IFNG ниже 4,8, то необходимо проводить параллельную оценку PDL-1. Если затем анализ генной экспрессии PDL-1 свидетельствует о том, что уровень превышает или равен 5,3, то рекомендуется комбинированная терапия (HER2- направленная и PDL1-направленная) (см. фиг. 19).

## Приложение I

### (ER-)-субпопуляция

Однофакторный анализ экспрессии CD274 с помощью pCR ER=ERneg (см. фиг. 9A) t-критерий

Да-нет

## Допускаемые неравные дисперсии

Различие	-0,32948	t-соотношение	-1,94171
Станд. ошибка различия	0,16969	DF	45,11513
Верхняя CL различия	0,01226	Prob >  t	0,0584
Нижняя CL различия	-0,67122	Prob > t	0,9708
Доверие	0,95	Prob < t	0,0292*

Результаты представлены также на фиг. 9Б.

Однофакторный анализ экспрессии IFNG с помощью pCR ER=Erneg

Результаты представлены на фиг. 10А

t-критерий

Да-нет

## Допускаемые неравные дисперсии

Различие	-0,58405	t-соотношение	-2,044225
Станд. ошибка различия	0,28571	DF	30,21429
Верхняя CL различия	1,16737	Prob >  t	0,0497*
Нижняя CL различия	0,00073,	Prob > t	0,0249*
Доверие	0,95	Prob < t	0,9751

Результаты представлены на фиг. 10Б.

ER(+)-субпопуляция

Однофакторный анализ экспрессии CD274 с помощью pCR ER=ERpos

Результаты представлены на фиг. 11А.

t-критерий

Да-нет

## Допускаемые неравные дисперсии

Различие	0,25169	t-соотношение	0,898709
Станд. ошибка различия	0,28006	DF	6,542171
Верхняя CL различия	0,92345	Prob >  t	0,4007
Нижняя CL различия	-0,42006	Prob > t	0,2003
Доверие	0,95	Prob < t	0,7997

Результаты представлены на фиг. 11Б

Однофакторный анализ экспрессии IFNG с помощью pCR ER=ERpos

Результаты представлены на фиг. 12А

t-критерий

Да-нет

## Допускаемые неравные дисперсии

Различие	0,5931	t-соотношение	1,501336
Станд. ошибка различия	0,3951	DF	7,109044
Верхняя CL различия	1,5244	Prob >  t	0,1763
Нижняя CL различия	-0,3382	Prob > t	0,0882
Доверие	0,95	Prob < t	0,9118

Результаты представлены на фиг. 12Б.

Приложение II

Номинальная логистическая аппроксимация для pCR ER=ERneg Сходимость по

методу градиентного спуска, 5 итераций

Полный модельный тест

Модель	-Log правдоподобия	DF	Хи-квадрат	Prob > Хи-квадрата
Различие	6,784783	6	13,56957	0,0348*
Полная	26,110299			
Редуцированная	32,895082			

5	R-квадрат (U)	0,2063
	AICc	69,0206
	BIC	79,319
	Оценка (или сумма весов)	48

10	Параметр	Определение тренда
	R-квадрат нтропии	0,2063 1-Log-правдопод. (модель)/Log-правдопод.(0)
	Генерализованный R-квадрат	0,3301 (1-(L(0)/L(модель))^(2/n))/(1-L(0))^(2/n))
	Среднее-Log p	0,5440 $\sum$ -Log(p[j])/n
	RMSE	0,4278 $\sqrt{\sum (y[j]-p[j])^2/n}$
15	Среднее абс. откл.	0,665 $\sum  y[j]-p[j] /n$
	Коэффициент ошибок классификации	0,2292 $\sum (p[j]\neq pMax)/n$
	N	48 N

#### Без аппроксимации

Источник	DF	-Log-правдоподобия	Хи-квадрат
Без аппроксим.	41	26,110299	52,2206
Насыщенн.	47	0,000000	Prob > Хи-квадрат
Аппроксим.	6	26,110299	0,1125

#### Оценки параметров

Показатель	Оценка	Станд. откл.	Хи-квадрат	Prob.>хи-квадр.	Ниже 95%	Выше 95%
Интерцепт	- 5,9688255	4,1632695	2,06	0,1517	- 15,115329	1,70408281
Возраст пациента	0,04906238	0,0425045	1,33	0,2484	- 0,0324034	0,13829525
Тип рака[IBC]	- 0,0943023	1,0982289	0,01	0,9316	- 2,5407977	2,23824618
30 Тип рака [LABC]	- 0,1514945	0,6544424	0,05	0,8169	- 1,5051269	1,21757158
pN[N0]	0,08157636	0,4979574	0,03	0,8699	- 0,8986622	1,09707358
Экспрессия CD274	1,64979222	0,7194762	5,26	0,0218*	0,39533833	3,2836052
35 Экспрессия IFNG	- 1,1882978	0,5122023	5,38	0,0203*	- 2,3323039	0,2889168

Для log-шансов нет/да

Роль тестов для соотношения правдоподобия

Источник	Кол-во параметров	DF	L-R-Хи-квадр.	Prob>Хи-квадр.
Возраст пациента		1	1,38574446	0,2391
Тип рака		2	0,19781033	0,9058
pN		1	0,02690704	0,8697
Экспрессия CD274		1	7,09800433	0,0077*
Экспрессия IFNG		1	7,15387723	0,0075*

45 Отношение шансов

для pCR-шансов «нет» относительно «да»

Тесты и доверительные интервалы отношений шансов основаны на соотношении правдоподобия

Единицы отношения шансов  
на единицу изменения независимой переменной в уравнении регрессии

Показатель	Отношение шансов	Ниже 95%	Выше 95%	Реципрокное отношение
Возраст пациента	1,050286	0,968116	1,148315	0,9521217
Экспрессия CD274	5,205898	1,484886	26,67176	0,1920898
Экспрессия IFNG	0,30474	0,097072	0,749074	3,2814908

Отношения шансов для типа рака

Уровень1	/Уровень2	Отношения шансов	Prob>хи-квадр.	Ниже 95%	Выше 95%
LABC	IBC	0,9444125	0,9722	0,0282989	35,902054
Операбельный	IBC	1,405087	0,8471	0,0357479	68,159191
Операбельный	LABC	1,4877895	0,6568	0,2518769	9,0216463
IBC	LABC	1,0588593	0,9722	0,0278536	35,337072
IBC	Операбельный	0,7116997	0,8471	0,0146715	27,973694
LABC	Операбельный	0,6721381	0,6568	0,1108445	3,9701934

15 Отношения шансов для pN

Уровень1	/Уровень2	Отношения шансов	Prob>хи-квадр.	Ниже 95%	Выше 95%
N1	N0	0,8494615	0,8697	0,1114536	6,033483
N0	N1	1,1772165	0,8697	0,1657417	8,9723459

20 Операционная характеристика приемника  
(см. фиг. 13)

Принимая, что pCR=«да» обозначает позитивный уровень

AUC  
0,79718

25 Матрица неточностей  
Фактическая  
Предсказанная

30 Тренд Нет Да  
Нет 22 5  
Да 6 15

Lift-фактор  
(см. фиг. 14)

35 pCR  
— Нет  
— Да

40 Профили прогнозирования  
(см. фиг. 15)  
Номинальная логистическая аппроксимация для pCR ER=ERpos  
Сходимость по методу градиентного спуска, 19 итераций  
Полный модельный тест

Модель	-Log-правдоподобие	DF	Хи-квадрат	Prob>хи-квадр.
Различие	2,400597	6	4,801193	0,5696
Полная	14,343001			
Уменьшенная	16,743598			

45

R-квадрат (U)	0,1434
AICc	46,2989
BIC	54,3309
Оценка (или сумма весов)	39

5	Параметр	Определение
	R-квадрат энтропии	0,1434 1-Log-правдопод.(модель)/Log-правдопод.(0)
10	Генерализованный R-квадрат	0,2010 (1-(L(0)/L(модель))^(2/n))/(1-L(0))^(2/n))
	Среднее -Log p	0,3678 $\sum -Log(p[j])/n$
	RMSE	0,3462 $\sqrt{\sum (y[j]-p[j])^2/n}$
	Средн. абсол. отклонение	0,2351 $\sum  y[j]-p[j] /n$
	Коэффициент ошибок классификации	0,1795 $\sum (p[j]\neq pMax)/n$
15	N	39 N

## Без аппроксимации

Источник	DF	-Log-правдоподобия	Хи-квадрат
Без аппроксим.	32	14,343001	28,686
Насыщенн.	38	0,000000	Prob>Хи-квадр.
Аппроксим.	6	14,343001	0,6351

## Оценка параметров

Показатель		Оценка	Станд. откл.	Хи-квадрат	Prob>Хи-квадр.	Ниже 95%	Выше 95%
Интерцепт	Нестабильный	7,20306909	3597,5107	0,00	0,9984	-	7058,1945
25	Возраст	0,0578149	0,0628112	0,85	0,3573	-	0,19608254
	пациентп					0,0560483	
	Тип рака [IBC]	12,0092513	7195,0139	0,00	0,9987	-	14113,9773
	Нестабильный.					14089,959	
30	Тип рака [LABC]	6,5864683	3597,507	0,00	0,9985	7057,5706	
	pN[N0]	-	0,5572904	0,01	0,9224	-	7044,39766
		0,0542869				1,117206	
	Экспрессия CD274	0,08485271	0,9859164	0,01	0,9314	-	1,1698378
						2,14104768	
35	Экспрессия IFNG	-	0,6191817	1,40	0,2362	-	1,8704698
		0,7334678				0,45985303	
						2,0476903	

Для log-шанса нет/да

## Роль тестов для соотношения правдоподобия

Источник	Кол-во параметров	DF	L-R-Хи-квадрат	Prob>Хи-квадрат
40	Возраст пациента	1	1	0,92588732
				0,3359
	Тип рака	2	2	1,89140212
				0,3884
	pN	1	1	0,00946444
				0,9225
	Экспрессия CD274	1	1	0,00742213
				0,9313
	Экспрессия IFNG	1	1	1,45693945
				0,2274

## 45 Отношение шансов

для pCR-шансов «нет» относительно «да»

Тесты и доверительные интервалы отношений шансов основаны на соотношении правдоподобия

Единицы отношения шансов  
на единицу изменения независимой переменной в уравнении регрессии

Показатель	Соотношение	Ниже	Выше	Реципрокное отношение
	шансов	95%	95%	
Возраст пациента	1,059519	0,945493	1,216627	0,9438246
Экспрессия CD274	1,088557	0,154051	8,508347	0,9186476
Экспрессия IFNG	0,480241	0,129033	1,583841	2,0822891

## Соотношения шансов для типа рака

Уровень1	/Уровень2	Соотношение шансов	Prob>Хи-квадр.	Ниже 95%	Выше 95%
LABC	IBC	8,3942e-9	0,2128	0	5,1523961
Операбельный	IBC	2,6876e-8	0,4499	0	20,868673
Операбельный	LABC	3,2017112	0,3193	0,2999262	36,429388
IBC	LABC	119129251	0,2128	0,1940845	.
IBC	Операбельный	37207993	0,4499	0,0479187	.
LABC	Операбельный	0,312333	0,3193	0,0274504	3,3341535

## Отношения шансов для pN

Уровень1	/Уровень2	Соотношение шансов	Prob>хи-квадр.	Ниже 95%	Выше 95%
N1	N0	1,1146872	0,9225	0,1070551	10,377869
N0	N1	0,8971126	0,9225	0,0963589	9,3409878

Операционная характеристика приемника  
(см. фиг. 16)

Принимая, что pCR=«да» обозначает позитивный уровень

25 AUC  
0,77273

Матрица неточностей  
Фактическая  
Предсказанная

30 Тренд Нет Да  
Нет 32 1  
Да 6 0

Настоящее изобретение относится к следующим нуклеотидным и аминокислотным последовательностям:

35 Последовательности, представленные в настоящем описании, среди прочего, доступны в базе данных NCBI и описаны в WO 2010/077634, их можно найти в Интернете на web-сайте ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=gene; эти последовательности включают также аннотированные и модифицированные последовательности. Настоящее изобретение относится также к технологиям и методам, в которых используют 40 гомологичные последовательности и укороченные варианты последовательностей, представленных в настоящем описании.

SEQ ID NO: 1-21 соответствуют антителу к PD-L1, которое можно применять согласно настоящему изобретению. SEQ ID NO: 1-21 представлены в перечне последовательностей.

45 SEQ ID NO: 22-37 представляют собой последовательности аминокислотных последовательностей доменов I-IV белка HER2 (SEQ ID NO: 22-25, см. также фиг. 1) и последовательности антител к HER2 (SEQ ID NO: 26-37; см. также фиг. 2-5).

SEQ ID NO: 26:

Аминокислотная последовательность вариабельного домена легкой цепи (V<sub>L</sub>) (фиг.

2А) мышного моноклонального антитела 2C4 (SEQ ID NO: 5 и 6 соответственно), представленная на фиг. 2.

SEQ ID NO: 27:

Аминокислотная последовательность вариабельного домена тяжелой цепи ( $V_H$ ) (фиг.

5 2Б) мышного моноклонального антитела 2C4, представленная на фиг. 2.

SEQ ID NO: 28:

Аминокислотная последовательность вариабельного домена легкой цепи ( $V_L$ ) (фиг.

2А) варианта 574/пертузумаба, представленная на фиг. 2.

SEQ ID NO: 29:

Аминокислотная последовательность вариабельного домена тяжелой цепи ( $V_H$ ) (фиг.

10 2Б) варианта 574/пертузумаба, представленная на фиг. 2.

SEQ ID NO: 30:

Человеческие консенсусные каркасные участки  $V_L$  (hum κ1, легкая кеппа-цепь,

15 подгруппа I; humIII, тяжелая цепь, подгруппа III), представленные на фиг. 2.

SEQ ID NO: 31:

Человеческие консенсусные каркасные участки  $V_H$  (hum κ1, легкая кеппа-цепь, подгруппа I; humIII, тяжелая цепь, подгруппа III), представленные на фиг. 2.

SEQ ID NO: 32:

20 Аминокислотные последовательности легкой цепи пертузумаба, представленные на фиг. 3А.

SEQ ID NO: 33:

Аминокислотные последовательности тяжелой цепи пертузумаба, представленные на фиг. 3Б.

25 SEQ ID NO: 34:

Аминокислотная последовательность домена легкой цепи трастузумаба, представленная на фиг. 4А. Пограничные последовательности домена вариабельной области легкой цепи обозначены стрелками.

SEQ ID NO: 35:

30 Аминокислотная последовательность тяжелой цепи трастузумаба, представленная на фиг. 4Б. Пограничные последовательности домена вариабельной области тяжелой цепи обозначены стрелками.

SEQ ID NO: 36:

35 Аминокислотная последовательность варианта последовательности легкой цепи пертузумаба (фиг. 5А).

SEQ ID NO: 37:

Аминокислотная последовательность варианта последовательности тяжелой цепи пертузумаба (фиг. 5Б).

SEQ ID NO: 38

40 Нуклеотидная последовательность, кодирующая рецептор прогестерона (PR) Homo sapiens.

NCBI референс-последовательность: NC\_000011.9

>gil224589802:c101000544-100900355 Homo sapiens, хромосома 11, GRCh37.p10

первичная сборка

45 SEQ ID NO: 39

Аминокислотная последовательность рецептора прогестерона (PR) Homo sapiens.

PRGR\_HUMAN длина: 933 07 декабря 2012 г., 15:10 тип: P Check: 6067.

SEQ ID NO: 40:

Нуклеотидная последовательность, кодирующая рецептор эстрогена (ER) Homo sapiens. (NM\_000125.3)

SEQ ID NO: 41:

Нуклеотидная последовательность, кодирующая рецептор эстрогена (ER) Homo sapiens.

NCBI референс-последовательность: NC\_000006.11

>gil224589818:152011631-152424409 Homo sapiens хромосома 6, GRCh37.p10 первичная сборка

SEQ ID NO: 42:

10 Аминокислотная последовательность рецептора эстрогена (ER) Homo sapiens.

>ENST00000206249\_6

SEQ ID NO: 43:

Нуклеотидная последовательность, кодирующая лиганд программированной клеточной гибели-1(PD-L1) Homo sapiens.

15 NCBI референс-последовательность: NC\_000009.11

>gil224589821:5450503-5470567 Homo sapiens хромосома 9, GRCh37.p10 первичная сборка

SEQ ID NO: 44

Нуклеотидная последовательность, кодирующая мРНК-транскрипт варианта 1

20 лиганда программированной клеточной гибели-1(PD-L1) (CD274) Homo sapiens

NCBI референс-последовательность: NM\_014143.3

>gil292658763|ref|NM\_014143.3| Homo sapiens молекула CD274 (CD274), транскрипт, вариант 1, мРНК

SEQ ID NO: 45:

25 Аминокислотная последовательность лиганда программированной гибели-1 (PD-L1) Homo sapiens (изоформа 1 предшественника лиганда программированной клеточной гибели-1 [Homo sapiens])

NCBI референс-последовательность: NP\_054862.1

>gil7661534|ref|NP\_054862.1| изоформа 1 предшественника лиганда

30 программированной клеточной гибели-1 [Homo sapiens].

SEQ ID NO: 46:

Нуклеотидная последовательность, кодирующая мРНК-транскрипт варианта 2

лиганда программированной клеточной гибели-1(PD-L1) (CD274) Homo sapiens

NCBI референс-последовательность: NM\_001267706.1

35 >gil390979638|ref|NM\_001267706.1| Homo sapiens молекула CD274 (CD274), транскрипт, вариант 2, мРНК.

SEQ ID NO: 47:

Аминокислотная последовательность лиганда программированной гибели-1 (PD-L1) Homo sapiens (изоформа b предшественника лиганда 1 программированной клеточной

40 гибели-1 [Homo sapiens])

NCBI референс-последовательность: NP\_001254635.1

>gil390979639|ref|NP\_001254635.1| изоформа b предшественника лиганда 1

программированной клеточной гибели 1 [Homo sapiens].

SEQ ID NO: 48:

45 Нуклеотидная последовательность, кодирующая лиганд программированной клеточной гибели-1(PD-L1) Homo sapiens (молекула CD274 (CD274) Homo sapiens, транскрипт, вариант 3, некодирующая РНК)

NCBI референс-последовательность: NR\_052005.1

>gi|390979640|ref|NR\_052005.1| Homo sapiens молекула CD274 (CD274), транскрипт, вариант 3, некодирующая РНК.

SEQ ID NO: 49:

Нуклеотидная последовательность, кодирующая интерферон-гамма

5 (Homo sapiens (Homo sapiens хромосома 12, GRCh37.p10 первичная сборка) NCBI референс-последовательность: NC\_000012.11

>gi|224589803:c68553521-68548550 Homo sapiens хромосома 12, GRCh37.p10 первичная сборка

SEQ ID NO: 50:

10 Нуклеотидная последовательность, кодирующая мРНК интерферона-гамма Homo sapiens.

NCBI референс-последовательность: NM\_000619.2

>gi|56786137|ref|NM\_000619.2| Homo sapiens интерферон, гамма (IFNG), мРНК.

SEQ ID NO. 51:

15 Аминокислотная последовательность интерферона-гамма Homo sapiens, предшественник интерферона-гамма [Homo sapiens]

NCBI референс-последовательность: NP\_000610.2

>gi|56786138|ref|NP\_000610.2| интерферон-гамма, предшественник [Homo sapiens].

20 Все процитированные в настоящем описании ссылки полностью включены в него в качестве ссылки. После ознакомления с полностью описанным изобретением специалист в области, к которой относится изобретение, может воплотить его на практике с использованием широкого и эквивалентного диапазона условий, параметров и т.п. без отклонения от сущности и объема изобретения или любых вариантов его осуществления.

25 (57) Формула изобретения

1. Способ определения потребности ракового пациента в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1 - лиганда программированной клеточной гибели-1,

30 (I) в котором для пациента показана терапия, включающая модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство или

(II) в котором пациент подвергается терапии, включающей модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) и химиотерапевтическое средство, включающий стадии, на которых

35 а) измеряют *in vitro* в образце из организма указанного пациента уровни экспрессии рецептора эстрогена (ER), PD-L1 и гамма-интерферона (IFN $\gamma$ ) и

40 б) классифицируют указанного пациента как нуждающегося в совместной терапии с использованием ингибитора PD-L1, если при измерении на стадии (а) установлен ER-негативный уровень экспрессии, повышенный уровень экспрессии PD-L1 по сравнению с пороговым значением PD-L1 и сниженный уровень экспрессии IFN $\gamma$  по сравнению с пороговым значением IFN $\gamma$ .

45 2. Способ по п. 1, где указанный модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) представляет собой ингибитор отщепления HER.

3. Способ по п. 2, в котором ингибитор отщепления HER представляет собой анти-HER антитело.

45 4. Способ по п. 3, где указанное анти-HER антитело связывается с HER-рецептором, выбранным из группы, состоящей из EGFR, HER2 и HER3.

5. Способ по п. 4, где указанное анти-HER2 антитело представляет собой герцептин/трастузумаб.

6. Способ по п. 1, где указанное химиотерапевтическое средство представляет собой таксон или производное таксона, где указанное производное таксона предпочтительно представляет собой доцетаксел.

7. Способ по п. 1, где указанный PD-L1 ингибитор представляет собой антитело,

5 которое специфически связывается с PD-L1.

8. Способ по п. 7, где указанное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, в которой:

(а) последовательность HVR-H1 представляет собой GFTFSX1SWIH (SEQ ID NO: 1);

(б) последовательность HVR-H2 представляет собой AWIX2PYGGSX3YYADSVKG

10 (SEQ ID NO: 2);

(в) последовательность HVR-H3 представляет собой RHWPGGF DY (SEQ ID NO: 3); в которой X1 обозначает D или G; X2 обозначает S или L; X3 обозначает T или S.

9. Способ по п. 8, где указанная вариабельная область тяжелой цепи объединена с вариабельной областью легкой цепи, содержащей последовательности HVR-L1, HVR-15 L2 и HVR-L3, где:

(а) последовательность HVR-L1 представляет собой RASQX4X5X6TX7X8A (SEQ ID NO: 8);

(б) последовательность HVR-L2 представляет собой SASX9LX10S (SEQ ID NO: 9);

(в) последовательность HVR-L3 представляет собой QQX11X2X13X14PX15T (SEQ ID NO: 10);

20 где: X4 обозначает D или V; X5 обозначает V или I; X6 обозначает S или N; X7 обозначает A или F; X8 обозначает V или L; X9 обозначает F или T; X10 обозначает Y или A; X11 обозначает Y, G, F или S; X12 обозначает L, Y, F или W; X13 обозначает Y, N, A, T, G, F или I; X14 обозначает H, V, P, T или I; X15 обозначает A, W, R, P или T.

25 10. Способ по п. 7, где указанное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где: вариабельная область тяжелой цепи содержит последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, которые обладают по меньшей мере 85%-ной идентичностью по всей длине последовательности с GFTFSDSWIH (SEQ ID NO: 15), AWISPYGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 16) и RHWPGGF DY (SEQ ID NO: 3) соответственно, и вариабельная область легкой цепи содержит

30 последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, которые обладают по меньшей мере 85%-ной идентичностью по всей длине последовательности с RASQDVSTAVA (SEQ ID NO: 17), SASFLYS (SEQ ID NO: 18) и QQYLYHPAT (SEQ ID NO: 19) соответственно.

11. Способ по п. 1, где указанный рак представляет собой солидный рак,

35 предпочтительно рак молочной железы или рак желудка.

12. Способ по п. 1, где указанный модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), указанное химиотерапевтическое средство и указанный PD-L1 ингибитор применяют в неоадьювантном режиме, или адьювантном режиме, или в метастатическом режиме.

40 13. Применение фармацевтической композиции, включающей эффективное количество модулятора сигнального пути Her2/neu (ErbB2), ингибитора PD-L1 и химиотерапевтического агента при лечении рака, где для указанного рака определен ER-негативный уровень экспрессии, повышенный уровень экспрессии PD-L1 по сравнению с пороговым значением PD-L1 и сниженный уровень IFN $\gamma$  по сравнению с 45 пороговым значением уровня IFN $\gamma$ .

14. Применение по п. 13, где указанный модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2) представляет собой ингибитор отщепления HER.

15. Применение по п. 14, где указанный ингибитор отщепления HER представляет

собой анти-HER антитело.

16. Применение по п. 15, где указанное анти-HER антитело связывается с HER-рецептором, выбранным из группы, состоящей из EGFR, HER2 и HER3.

17. Применение по п. 16, где указанное анти-HER2 антитело представляет собой

5 герцептин/трастузумаб.

18. Применение по п. 13, где указанное химиотерапевтическое средство представляет собой таксол или производное таксола, где указанное производное таксола 10 предпочтительно представляет собой доцетаксел.

19. Применение по п. 13, где указанный PD-L1 ингибитор представляет собой

10 антитело, которое специфически связывается с PD-L1.

20. Применение по п. 19, где указанное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, в которой:

(а) последовательность HVR-H1 представляет собой GFTFSX1SWIH (SEQ ID NO: 1);

(б) последовательность HVR-H2 представляет собой AWIX2PYGGSX3YYADSVKG

15 (SEQ ID NO: 2);

(в) последовательность HVR-H3 представляет собой RHWPGGF DY (SEQ ID NO: 3); в которой X1 обозначает D или G; X2 обозначает S или L; X3 обозначает T или S.

21. Применение по п. 20, где указанная вариабельная область тяжелой цепи объединена с вариабельной областью легкой цепи, содержащей последовательности 20 HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, где:

(а) последовательность HVR-L1 представляет собой RASQX4X5X6TX7X8A (SEQ ID NO: 8);

(б) последовательность HVR-L2 представляет собой SASX9LX10S (SEQ ID NO: 9);

(в) последовательность HVR-L3 представляет собой QQX11X12X13X14PX15T (SEQ

25 ID NO: 10);

где X4 обозначает D или V; X5 обозначает V или I; X6 обозначает S или N; X7 обозначает A или F; X8 обозначает V или L; X9 обозначает F или T; X10 обозначает Y или A; X11 обозначает Y, G, F или S; X12 обозначает L, Y, F или W; X13 обозначает Y, N, A, T, G, F или I; X14 обозначает H, V, P, T или I; X15 обозначает A, W, R, P или T.

30 22. Применение по п. 19, где указанное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где:

вариабельная область тяжелой цепи содержит последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, которые обладают по меньшей мере 85%-ной идентичностью по всей длине последовательности с GFTFSDSWIH (SEQ ID NO: 15), AWISPYGGSTYYADSVKG

35 (SEQ ID NO: 16) и RHWPGGF DY (SEQ ID NO: 3) соответственно, и вариабельная область легкой цепи содержит последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, которые обладают по меньшей мере 85%-ной идентичностью по всей длине последовательности с RASQDVSTAVA (SEQ ID NO: 17), SASFLYS (SEQ ID NO: 18) и QQYLYHPAT (SEQ ID NO: 19) соответственно.

40 23. Применение по п. 13, где указанный рак представляет собой солидный рак, предпочтительно рак молочной железы или рак желудка.

24. Применение по п. 13, где указанный модулятор пути передачи сигналов HER2/neu (ErbB2), указанное химиотерапевтическое средство и указанный PD-L1 ингибитор применяют в неоадъювантном режиме, или адьювантном режиме, или в метастатическом 45 режиме.

25. Применение модулятора сигнального пути Her2/neu (ErbB2), PD-L1 ингибитора и химиотерапевтического агента при лечении рака, где для этого рака определен ER-негативный уровень экспрессии, повышенный уровень экспрессии PD-L1 по сравнению

с пороговым значением PD-L1 и сниженный уровень экспрессии IFN $\gamma$  по сравнению с пороговым значением IFN $\gamma$ .

5

10

15

20

25

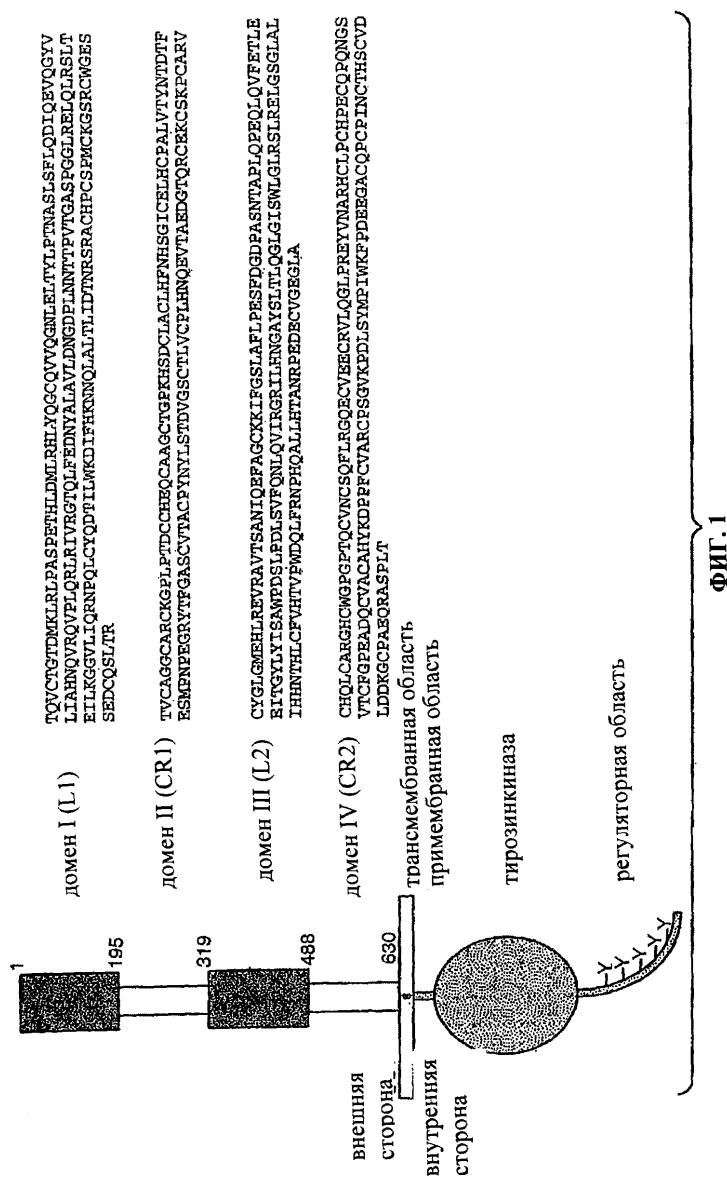
30

35

40

45

ФИГ. 1



ФИГ. 2

вариабельная область легкой цепи

	10	20	30	40
2C4	DTVMTQSHKIMSTSVDGRVSITC	[KASQDVSIGVA]	WYQQRP	*
	**	**** *	*	
574	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	[KASQDVSIGVA]	WYQQKP	
		*	** ***	
hum κI	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	[RASQSISNYLA]	WYQQKP	
	50	60	70	80
2C4	GQSPKLLIY	[SASYRYT]	GVPDRFTGSGSGTDEFTFTISSLQ	
	**		*	*
574	GKAPKLLIY	[SASYRYT]	GVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQ	
		*	*****	
hum κI	GKAPKLLIY	[AASSILES]	GVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQ	
	90	100		
2C4	EDLAVYYC	[QQYYIYPYT]	FGGGTKLEIK	(SEQ ID NO:5)
	**		*	*
574	EDFATYYC	[QQYYIYPYT]	FGGGTKVEIK	(SEQ ID NO:7)
		*** *		
hum κI	EDFATYYC	[QQYNSLPWT]	FGGGTKVEIK	(SEQ ID NO:9)

ФИГ. 2А

вариабельная область тяжелой цепи

	10	20	30	40
2C4	EVQLQQSGPELVKPGTSVKISCKAS	[GFTFTDYTMD]	WVKOS	*
	**	**	***	*
574	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	[GFTFTDYTMD]	WVRQA	** *
hum III	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	[GFTFSSYAMS]	WVRQA	
	50	60	70	80
2C4	HGKSLEWIG	[DVNPNSGGSIYNQRFKG]	KASLTVDRSSRIVYM	
	*	**	***	**** *
574	PGKGLEWVA	[DVNPNSGGSIYNQRFKG]	RFTLSVDRSKNTLYL	
	*****	***	****	*
hum III	PGKGLEWVA	[VISGDGGSTYYADSVKG]	RFTISRDNSKNTLYL	
	abc	90	100ab	110
2C4	ELRSLTPEDTAVYYCAR	[NLGPSFYFDY]	WGQGTLTVSS	(SEQ ID NO:6)
	***	**		**
574	QMNSLRAEDTAVYYCAR	[NLGPSFYFDY]	WGQGTLTVSS	(SEQ ID NO:8)
	*****			
hum III	QMNSLRAEDTAVYYCAR	[GRVGYSLYDY]	WGQGTLTVSS	(SEQ ID NO:10)

ФИГ. 2Б

3/18

ФИГ. 3

аминокислотная последовательность легкой цепи пертузумаба

1	10	20	30	40	50	60
DIQMTQSPSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRTGVPS						
	70	80	90	100	110	120
	RPSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTTKVEIKRTVAAPSVFIFPP					
130	140	150	160	170	180	
SDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT						
	190	200	210			
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC						

ФИГ. 3А

аминокислотная последовательность тяжелой цепи пертузумаба

1	10	20	30	40	50	60
EVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDVTMDWYRQAPGKGLEWVADVNPNNSGGSTY						
	70	80	90	100	110	120
NQRFKGRFTLSDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSTYFDIYGQGTLVTVSSA						
	130	140	150	160	170	180
STKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPAPVLQSSG						
	190	200	210	220	230	240
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP						
	250	260	270	280	290	300
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS						
	310	320	330	340	350	360
TYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM						
	370	380	390	400	410	420
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ						
	430	440	448			
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG						

ФИГ. 3Б

ФИГ. 4

легкая цепь

1 D I Q M T Q S P S S L I S A S V G D R V T I T C R A S Q D V N T A V A W Y Q Q K P G K A P K  
 15  
 46 L L I Y S A S F L Y S G V P S R F S G S R S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q  
 45  
 60  
 75  
 90  
 91 H Y T T T P P T F G Q G T K V E I K R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L  
 91  
 105  
 120  
 135  
 136 L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S S V T E Q D S K D S T Y S L S S S T L T  
 150  
 165  
 180  
 181 L S K A D Y E K H K V V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S P N R G E C  
 195  
 210  
 214

ФИГ. 4А

ФИГ. 4 (продолжение).

ТЯЖЕЛЯ ЦЕЛЬ

1 E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F N I K D T Y I H W V R Q A P G K G L 45  
 46 E W V A R I Y P T N G Y T R Y A D S V K G R F T I S A D T S K N T A Y L Q M N S L R A E D 60  
 91 T A V Y Y C S R W G G D G F Y A M D Y W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S 75  
 136 K S T S G G T A A L G C L V K D Y F F E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S 105 120 135  
 181 G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K 150 165 180  
 226 T H T C F P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S 195 210 225  
 271 H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D 240 255 270  
 316 W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E 330 345 360  
 361 M T K N Q V S L T C L V K G P Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G 375 390 405  
 406 S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G 420 435 449

ФИГ.4Б

ФИГ. 5

1 V H S D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q D V S I G V A W Y Q Q K P G K  
 15  
 46 A P K L L I Y S A S Y R Y T G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P B D F A T Y Y  
 60  
 75  
 90  
 91 C Q Q Y Y I Y P Y T F G Q G T K V E I K R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V  
 105  
 120  
 136 V C L L N N P Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S  
 150  
 165  
 180  
 181 T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S S P V T K S F N R G E C  
 195  
 210  
 217

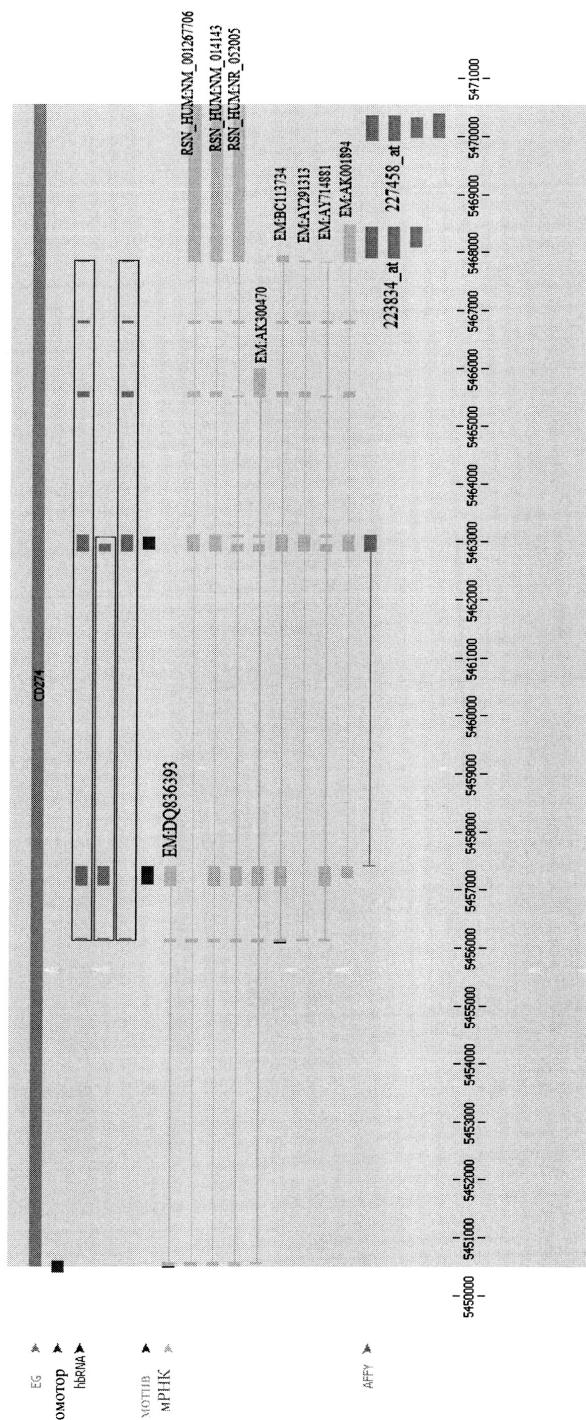
ФИГ. 5А

ФИГ. 5 (продолжение).

1 E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F T D Y T M D W V R Q A P G K G L 45  
 46 E W V A D V N P N S G G S I Y N Q R F K G R F T L S V D R S K N T L Y L Q M N S L R A E D 50  
 91 T A V Y Y C A R N L G P S F Y F D Y W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S R 90  
 105  
 136 S T S G G T A A L G C L V K D Y F P P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G 120  
 135  
 181 L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T 165  
 195  
 226 H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S G 210 225  
 240  
 271 E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W 255 270  
 285  
 316 L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q F R E P Q V Y T L P P S R E M 300 315  
 330  
 361 T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S M G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S 345 360  
 375  
 406 F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K 420 435 449

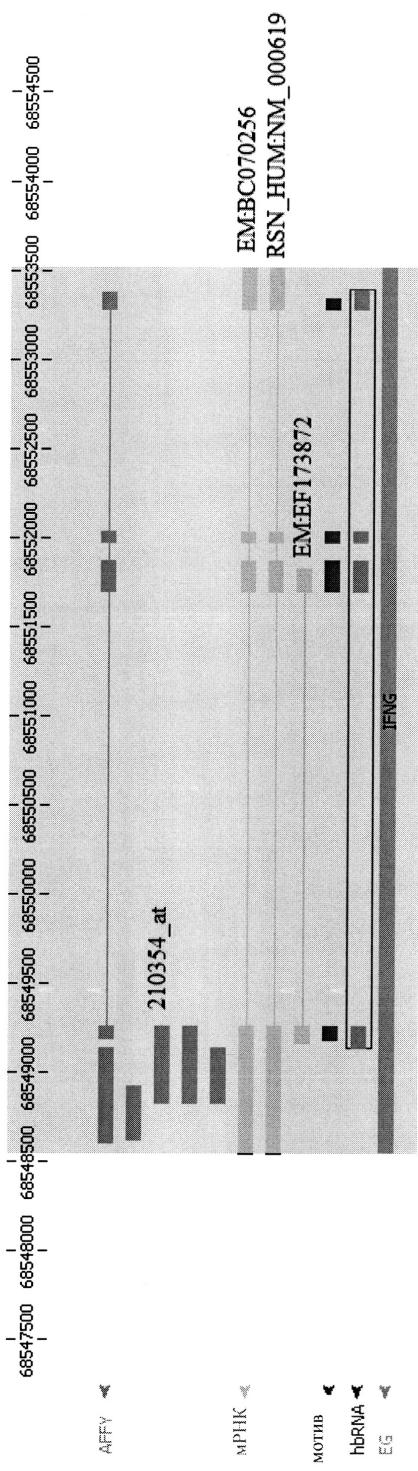
ФИГ. 5Б

ФИГ. 6



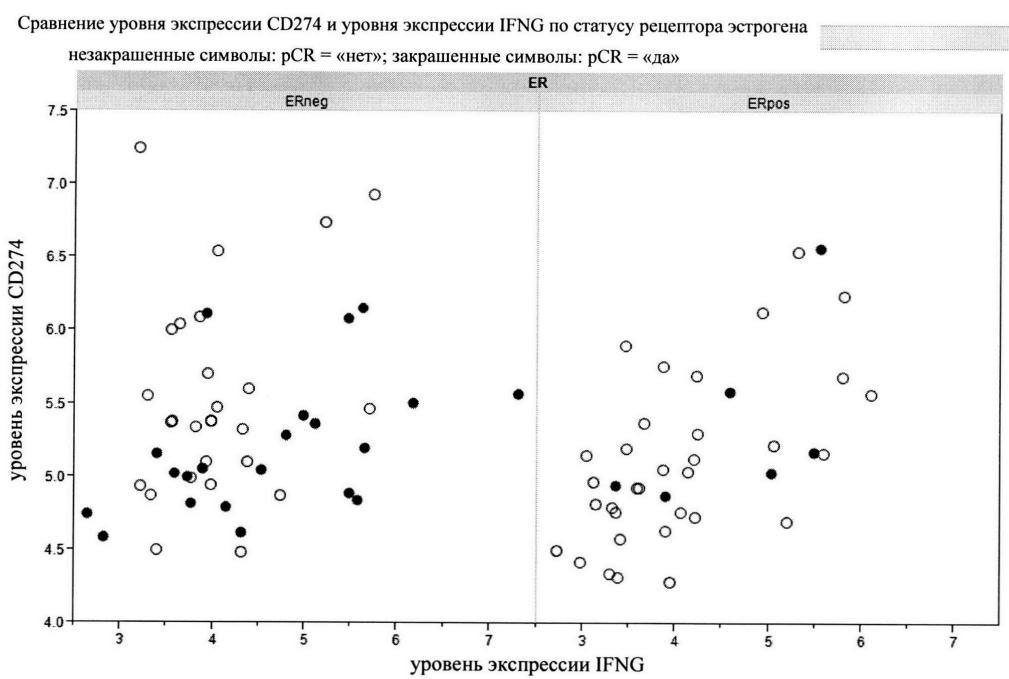
9/18

ФИГ. 7



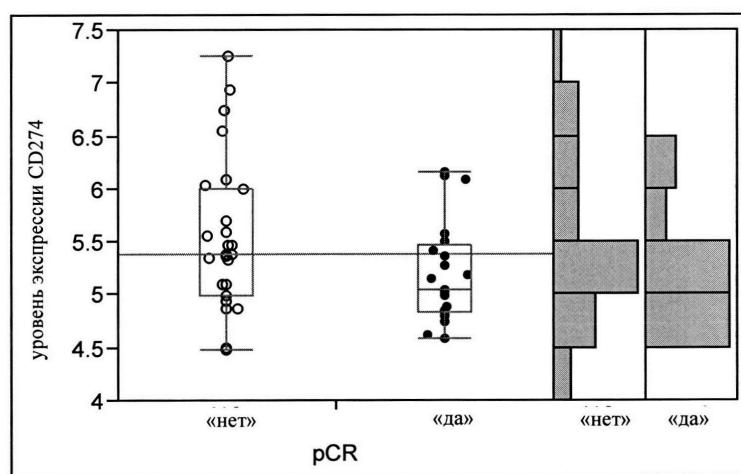
10/18

ФИГ. 8

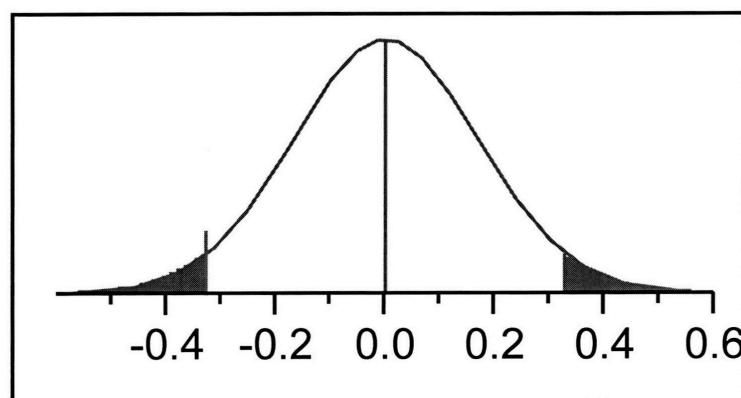


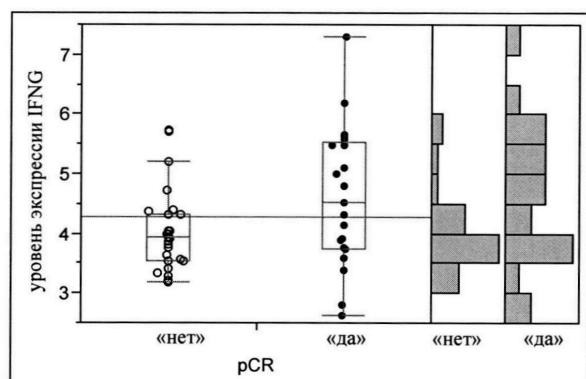
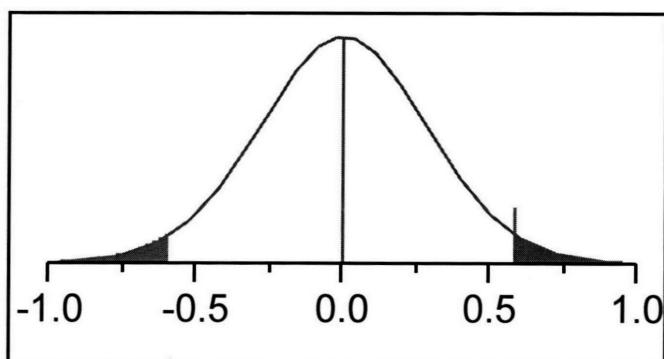
ФИГ. 9

А.



Б.

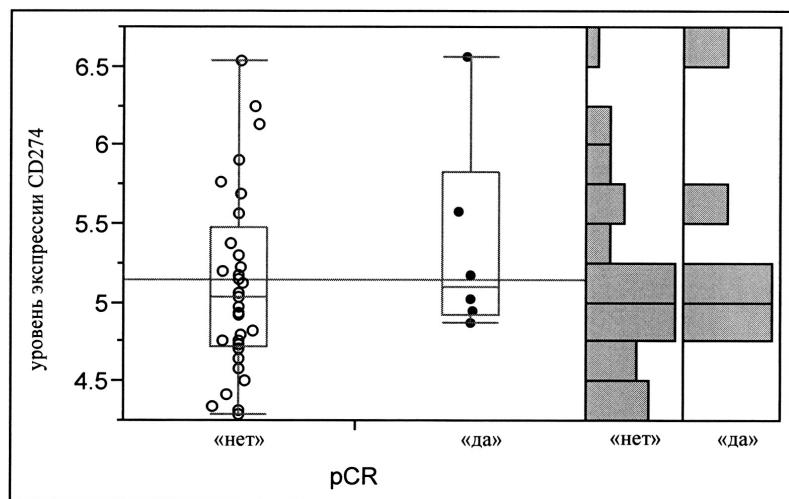


**ФИГ. 10****А.****Б.**

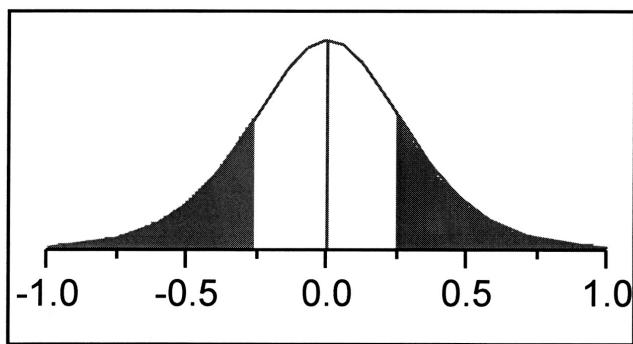
13/18

ФИГ. 11

А.

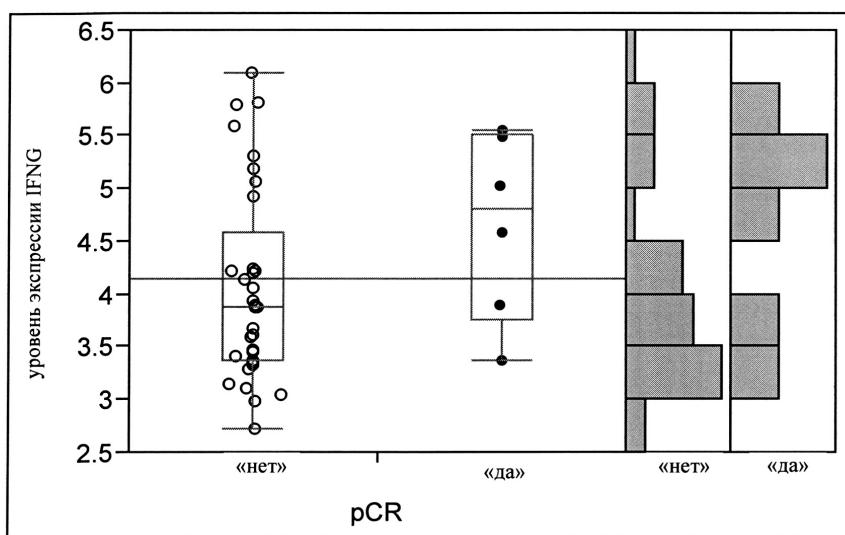


Б.

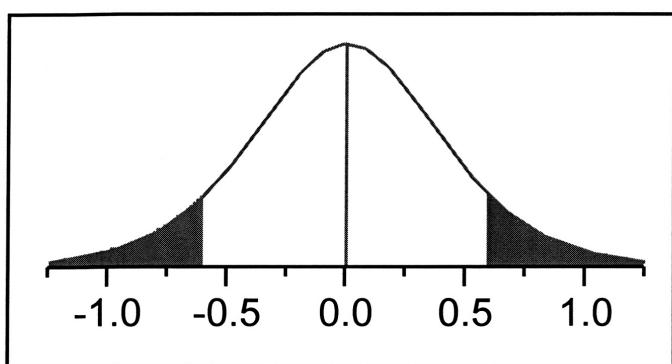


ФИГ. 12

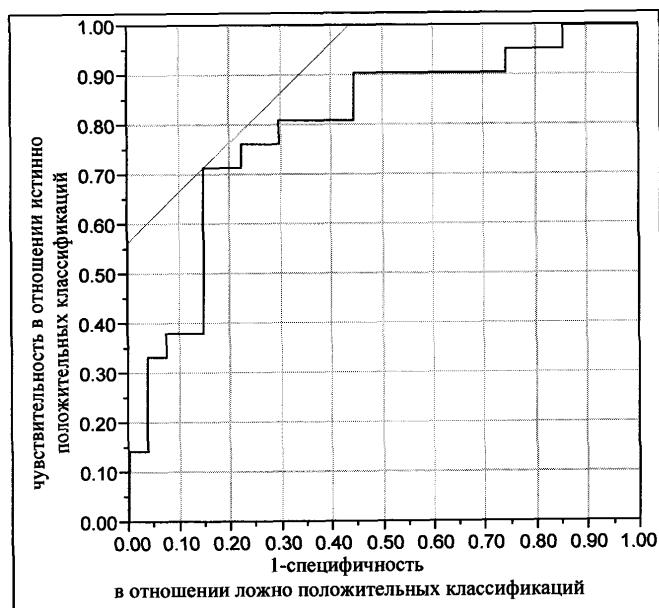
А.



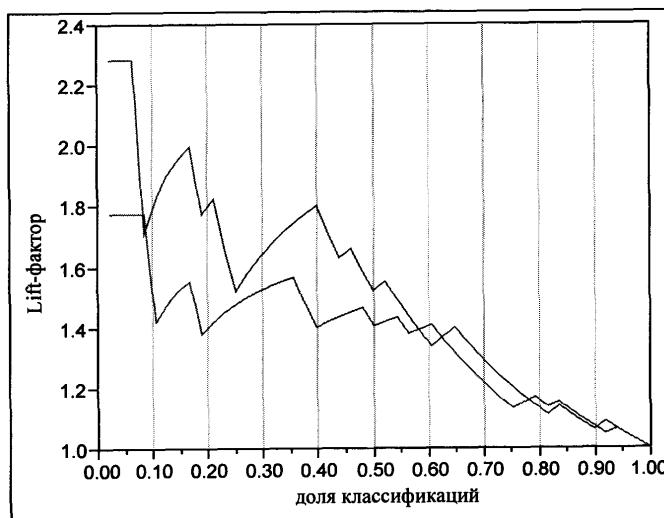
Б.



ФИГ. 13

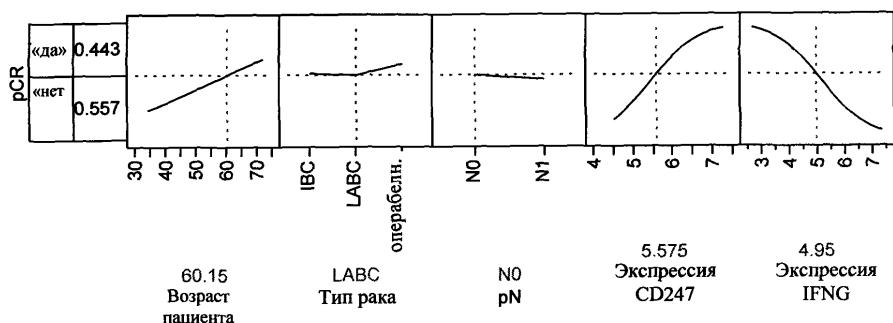


ФИГ. 14

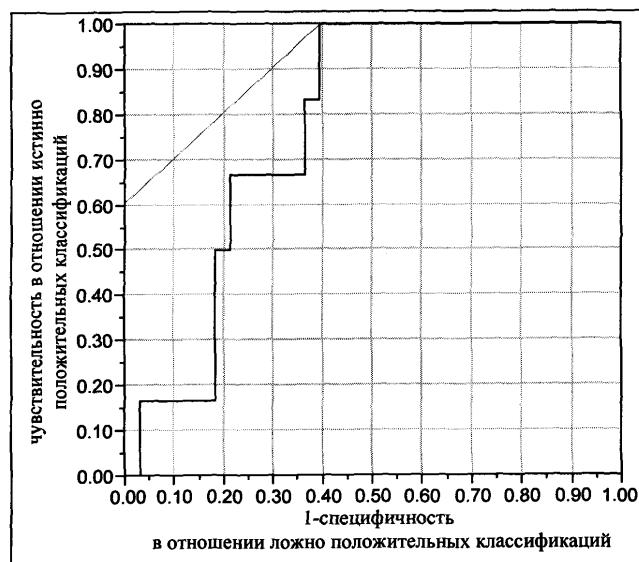


16/18

ФИГ. 15

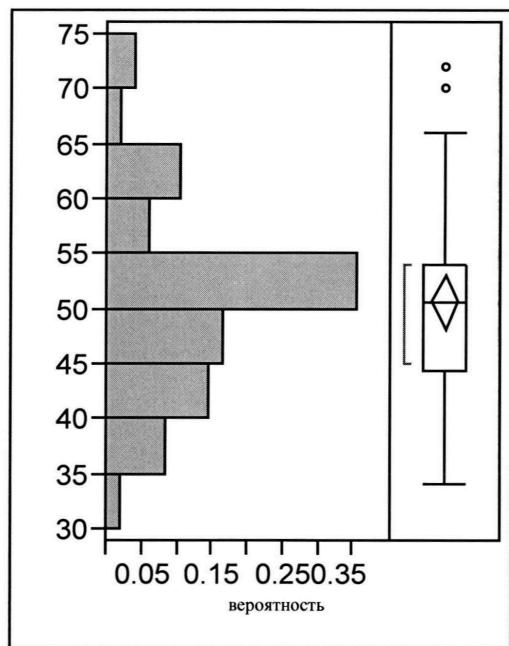


ФИГ. 16

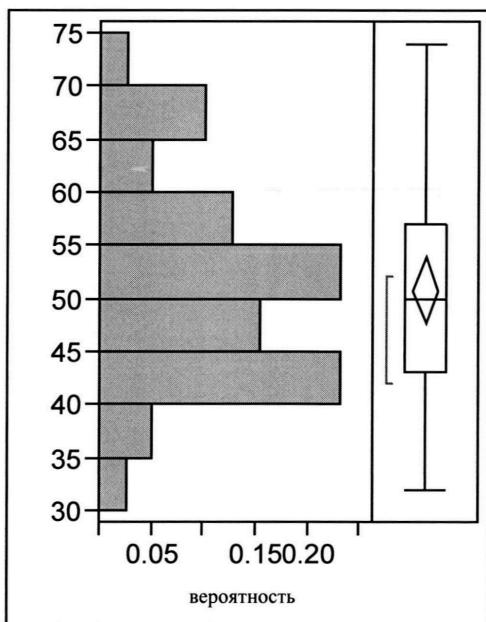


17/18

ФИГ. 17



ФИГ. 18



18/18

ФИГ. 19

