



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

C07K 16/28 (2020.01); C07K 16/24 (2020.01); A61K 31/4439 (2020.01); A61P 35/00 (2020.01)

(21)(22) Заявка: 2018101314, 15.06.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
15.06.2016

Дата регистрации:
16.03.2022

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

16.06.2015 US 62/180,543;

17.09.2015 US 62/219,995;

25.01.2016 US 62/286,501;

17.05.2016 US 62/337,489

(43) Дата публикации заявки: 16.07.2019 Бюл. № 20

(45) Опубликовано: 16.03.2022 Бюл. № 8

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 16.01.2018

(86) Заявка РСТ:
US 2016/037498 (15.06.2016)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2016/205277 (22.12.2016)

Адрес для переписки:

105082, Москва, пер. Спартаковский, 2, стр. 1,
секция 1, этаж 3, ЕВРОМАРКПАТ

(72) Автор(ы):

ЭНДРЬЮС Глен Айан (US),

ЧЕНЬ Шихао (US),

ДИ ПЬЕТРО Алессандра (IT),

ФОНТАНА Дейвид (US),

ГОЛДБЕРГ Зеланна (US),

ЛИНЬ Чиа-Ян (US),

ЛОНГ Хуа (US),

МАРТИНЬОНИ Марселла (IT),

НУЙТЕН Дмитрий Серж Антуан (US),

ТОЛЛ Арон Дейвид (US),

ВУЛФСОН Адриан (US)

(73) Патентообладатель(и):

МЕРК ПАТЕНТ ГМБХ (DE),

ПФАЙЗЕР, ИНК. (US)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: MASSARI F. and et.al., PD-1 blockade
therapy in renal cell carcinoma: Current studies
and future promises, 2015 (February), Cancer
Treatment Reviews, V.41 (Issue 2) pp.114-121. RU
2542994 C2, 27.02.2015. US 20100203056 A1,
12.08.2010.

(54) КОМБИНИРОВАННЫЕ СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ АНТАГОНИСТАМИ PD-L1

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биохимии,
в частности к применению антагониста лиганда
1 белка запрограммированной гибели (PD-L1) в
комбинации с ингибитором VEGFR для лечения
рака, ассоциированного с VEGFR и PD-L1 у
субъекта. Так же раскрыто применение

лекарственного средства и набора, содержащего
указанную комбинацию. Изобретение позволяет
эффективно лечить рак, ассоциированный с
VEGFR и PD-L1. 4 н. и 18 з.п. ф-лы, 3 ил., 10 табл.,
10 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

C07K 16/24 (2006.01)*C07K 16/28* (2006.01)*A61K 31/4439* (2006.01)*A61K 39/00* (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

C07K 16/28 (2020.01); C07K 16/24 (2020.01); A61K 31/4439 (2020.01); A61P 35/00 (2020.01)(21)(22) Application: **2018101314, 15.06.2016**(24) Effective date for property rights:
15.06.2016Registration date:
16.03.2022

Priority:

(30) Convention priority:
16.06.2015 US 62/180,543;
17.09.2015 US 62/219,995;
25.01.2016 US 62/286,501;
17.05.2016 US 62/337,489(43) Application published: **16.07.2019 Bull. № 20**(45) Date of publication: **16.03.2022 Bull. № 8**(85) Commencement of national phase: **16.01.2018**(86) PCT application:
US 2016/037498 (15.06.2016)(87) PCT publication:
WO 2016/205277 (22.12.2016)Mail address:
105082, Moskva, per. Spartakovskij, 2, str. 1,
sektiya 1, etazh 3, EVROMARKPAT

(72) Inventor(s):

ENDRYUS Glen Ajan (US),
CHEN Shikhao (US),
DI PETRO Alessandra (IT),
FONTANA Dejvid (US),
GOLDBERG Zelanna (US),
LIN Chia-Yan (US),
LONG Khua (US),
MARTINONI Marsella (IT),
NUJTEN Dmitrij Serzh Antuan (US),
TOLL Aron Dejvid (US),
VULFSON Adrian (US)

(73) Proprietor(s):

MERK PATENT GMBKH (DE),
PFAJZER, INK. (US)**(54) COMBINED METHODS FOR TREATING WITH PD-L1 ANTAGONISTS**

(57) Abstract:

FIELD: biochemistry.

SUBSTANCE: invention relates to the use of a programmed death protein ligand 1 (PD-L1) antagonist in combination with a VEGFR inhibitor for treating cancer associated with VEGFR and PD-L1 in a subject.

Also disclosed is the use of a drug and a kit containing said combination.

EFFECT: invention makes it possible to effectively treat cancer associated with VEGFR and PD-L1.

22 cl, 3 dwg, 10 tbl, 10 ex

Область изобретения

Настоящее изобретение касается комбинированных способов терапии, применяемых для лечения рака. В частности, изобретение касается комбинированной терапии, включающей антагонист белка лиганда программируемой смерти 1 (PD-L1) и одно или несколько дополнительных терапевтических средств.

Уровень техники

Почечноклеточная карцинома (RCC) является наиболее распространенной разновидностью рака почек и составляет приблизительно 3% от всех злокачественных опухолей у взрослых. До 2005 г. виды терапии с применением интерферона-альфа (IFN- α) и высоких доз интерлейкина (IL)-2 были стандартами лечения для пациентов с запущенной формой RCC (aRCC), хотя они обладали скромной эффективностью. С тех пор разработка и утверждение множественного пути фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и ингибиторов мишени рапамицина в клетках млекопитающих (mTOR) значительно улучшили результаты пациентов с aRCC. К этим агентам относятся ингибиторы тирозинкиназы (TKI) рецептора VEGF (VEGFR) сунитиниб, пазопаниб, акситиниб и сорафениб, ингибиторы mTOR темсиrolimus и эверолимус и моноклональное антитело против VEGF бевацизумаб. Однако, несмотря на существенные улучшения результатов пациентов при применении этих агентов, длительная и полная ремиссия у пациентов с aRCC случается редко; у большинства пациентов со временем вырабатывается резистентность, наблюдается прогрессирование болезни во время терапии, и они умирают вследствие метастатического процесса.

Рецептор программируемой смерти 1 (PD-1) и лиганды PD-1 1 и 2 (PD-L1 и PD-L2, соответственно) играют ключевую роль в иммунной регуляции. Экспрессируемый на активированных Т-клетках, PD-1 активируется PD-L1 (также известным как B7-H1) и PD-L2, экспрессируемыми стромальными клетками, опухолевыми клетками, или и теми и другими, вызывая гибель Т-клеток и локализованное подавление иммунитета (Dong et al., Nat Med 1999; 5: 1365 - 69; Freeman et al. J Exp Med 2000; 192: 1027 - 34), потенциально обеспечивая иммунотолерантную среду для развития и роста опухоли. И наоборот, подавление этого взаимодействия может усилить локальный Т-клеточный иммунный ответ и посредничать в противоопухолевой активности в неклинических животных моделях (Iwai Y, et al. Proc Natl Acad Sci USA 2002; 99: 12293 - 97). Авелумаб является полностью человеческим mAb изотипа IgG1, который специфически нацеливается и блокирует PD-L1. Авелумаб - международное непатентованное название (INN) для моноклональное антитело против PD-L1 MSB0010718C.

Акситиниб является рецептором VEGF (VEGFR) TKI. Противоопухолевая активность 5 мг акситиниба в качестве средства монотерапии дважды в день (BID) у ранее не подвергавшихся лечению пациентов со светлоклеточной aRCC оценивали по сравнению с сорафенибом в рандомизированном открытом исследовании 3-й фазы. Хотя исследование не продемонстрировало статистически значимой разницы в выживаемости без прогрессирования (PFS) между пациентами, подвергавшимися лечению акситинибом или сорафенибом, акситиниб был связан с более длительным средним временем PFS (mPFS) (mPFS 10,1 месяца (95% CI 7,2,12,1) для акситиниба по сравнению с 6,5 месяца (95% CI 4,7, 8,3) для сорафениба, стратифицированное отношение рисков 0,77 (95% CI 0,56, 1,05).

4-1BB (CD137 и TNFRSF9), который впервые был распознан как индуцируемый костимулирующий рецептор, экспрессируемый на активированных Т-клетках, является трансмембранным гликопротеином из надсемейства рецепторов фактора некроза опухолей (TNF). Согласно нынешнему пониманию 4-1BB, экспрессия в целом зависит

от активации и охватывает широкую субпопуляцию иммунных клеток, включая активированные клетки NK и NKT; регуляторные Т-клетки; дендритные клетки (DC), включая фолликулярные DC; стимулированные мастоциты, дифференцирующие миелоидные клетки, моноциты, нейтрофилы, эозинофилы и активированные В-клетки.

5 Экспрессия 4-1BB также была продемонстрирована на сосудистой сети опухоли (19-20) и атеросклеротическом эндотелии. Лиганд, который стимулирует 4-1BB (4-1BBL), экспрессируется на активированных антиген-презентирующих клетках (APCs), миелоидных клетках-предшественниках и кроветворных стволовых клетках. Mab, представляющие агонисты 4-1BB, повышают экспрессию костимулирующих молекул
10 и заметно усиливают ответ цитотоксических Т-лимфоцитов, результатом которого является противоопухолевая эффективность в разных моделях. Mab, представляющие агонисты 4-1BB, продемонстрировали эффективность в профилактике и терапии на опухолевых моделях как при монотерапии, так и при комбинированной терапии, и был установлен длительный противоопухолевый защитный Т-клеточный вторичный
15 иммунный ответ.

Колониестимулирующий фактор макрофагов (M-CSF) относится к семейству белков, называемых колониестимулирующими факторами (CSFs). M-CSF, также известный как CSF-1, секретируется или является гликопротеином клеточной поверхности, состоящим из двух субъединиц, соединенных дисульфидной связью с общей молекулярной массой,
20 которая колеблется от 40 до 90 кДа (Stanley E. R., et al., Mol. Reprod. Dev., 46: 4 - 10 (1997)). Подобно другим CSF, M-CSF вырабатывается макрофагами, моноцитами и клетками соединительной ткани человека, такими, как хондроциты и синовиальные фибробласты, в ответ на белки, такие, как интерлейкин-1 или фактор некроза опухолей-альфа. M-CSF стимулирует образование колоний макрофагов из плюрипотентных кроветворных
25 стволовых клеток-предшественниц (Stanley E. R., et al., Mol. Reprod. Dev., 46: 4 - 10 (1997)). M-CSF, как правило, связывается с его рецептором, c-fms, для создания биологического эффекта. C-fms содержит пять внеклеточных доменов Ig, один трансмембранный домен и внутриклеточный домен с двумя киназными доменами. После связывания M-CSF с c-fms рецептор гомодимеризуется и запускает каскад путей трансдукции сигнала,
30 включая пути JAK/STAT, PI3K и ERK.

Рецептор OX40 (OX40, также известный как CD134, TNFRSF4, ACT-4, ACT35 и TXGP1L) относится к надсемейству рецепторов TNF. Было обнаружено, что OX40 экспрессируется на активированных CD4+Т-клетках. Большое количество OX40+ Т-клеток было продемонстрировано в опухолях (инфильтрирующие опухоли лимфоциты)
35 и в дренирующих лимфатических узлах страдающих от рака пациентов (Weinberg, A. et al., J. Immunol. 164: 2160 - 69, 2000; Petty, J. et al., Am. J. Surg. 183: 512 - 518, 2002). В опухолевых моделях на животных было продемонстрировано, что участие OX40 in vivo во время зарождения опухоли значительно задерживало и предотвращало появление опухолей по сравнению с контрольными мышами (Weinberg et al., 2000). Таким образом,
40 предполагалось усиление иммунной реакции млекопитающего на антиген путем задействования OX40 через использование связующего агента для OX40 (документ WO 99/42585; Weinberg et al., 2000).

Антитело ритуксимаб представляет собой подвергнутое генной инженерии химерное мышиное / человеческое моноклональное антитело, направленное против антигена
45 CD20. Ритуксимаб является антителом, указываемым как "C2B8" в Патенте США №5,736,137, выданном 7 апреля 1998 г. (Anderson et al.). Ритуксимаб показан для лечения пациентам с рецидивной или рефрактерной низкоккачественной или фолликулярной, CD20-положительной, В-клеточной неходжкинской лимфомы. In vitro исследования

механизма действия продемонстрировали, что ритуксимаб связывается с человеческим комплементом и разрушает линии лимфоидных В-клеток через комплементзависимую цитотоксичность (CDC) (Reff et al. Blood 83(2): 435-445 (1994)). Кроме того, он обладает значительной активностью в анализах на антителозависимую клеточную

5 цитотоксичность (ADCC).

Существует потребность в усовершенствованных способах терапии для лечения рака. Кроме того, существует потребность в способах терапии, обеспечивающих большую эффективность по сравнению с существующими. Предпочтительные комбинированные способы терапии согласно настоящему изобретению демонстрируют

10 большую эффективность по сравнению с лечением любым из терапевтических средств в отдельности.

Краткое описание изобретения

Это изобретение касается терапевтических режимов лечения рака.

Авторами предлагаются способы лечения рака у субъекта. Также предлагаются

15 способы подавления роста или прогрессирования опухолей у субъекта со злокачественными клетками. Также предлагаются способы подавления метастазов злокачественных клеток у субъекта. Также предлагаются способы вызывания регрессии опухоли у субъекта со злокачественными клетками.

В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту средств

20 комбинированной терапии, которая включает антагонист PD-L1 и ингибитор VEGFR. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает медикамент, включающий антагонист PD-L1 для применения в комбинации с ингибитором VEGFR для лечения рака. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает медикамент, включающий ингибитор VEGFR для применения в комбинации с

25 антагонистом PD-L1 для лечения рака. Другие варианты осуществления предусматривают применение антагониста PD-L1 в производстве медикамента для лечения рака у субъекта при введении в комбинации с ингибитором VEGFR и применение ингибитора VEGFR в производстве медикамента для лечения рака у субъекта при введении в комбинации с антагонистом PD-L1. В некоторых вариантах осуществления

30 изобретение предусматривает применение антагониста PD-L1 и ингибитора VEGFR в производстве медикаментов для лечения рака у субъекта. В некоторых вариантах осуществления медикаменты включают комплект, и комплект также включает листок-вкладыш в упаковке, содержащий инструкции по применению антагониста PD-L1 в комбинации с ингибитором VEGFR для лечения рака у субъекта. Во всех из

35 вышеупомянутых вариантов осуществления способа лечения медикаментов и их применения ингибитором VEGFR является N-метил-2-[3-((E)-2-пиридин-2-ил-винил)-1H-индазол-6-илсульфанил]-бензамид или его фармацевтически приемлемая соль.

Также обеспечиваются комплекты, включающие первое вместилище, второе вместилище и листок-вкладыш в упаковке, причем первое вместилище включает по

40 меньшей мере одну дозу медикамента, включающего антагонист против PD-L1, второе вместилище включает по меньшей мере одну дозу медикамента, включающего ингибитор VEGFR, и листок-вкладыш в упаковке включает инструкции по лечению субъекта от рака с применением медикаментов.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутых способов, медикаментов, применения или комплектов ингибитором VEGFR может быть акситиниб, который

45 может быть рецептирован в форме 1 мг таблетки, 3 мг таблетки или 5 мг таблетки.

В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1 и

антитело против 4-1BB. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1 и антитело против M-CSF. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1 и антитело против OX40. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1, антитело против 4-1BB и антитело против M-CSF. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1, антитело против 4-1BB и антитело против OX40.

В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1 и антагонист CD20. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1, антагонист CD20 и антитело против 4-1BB. В некоторых вариантах осуществления антагонистом PD-L1 является авелумаб, а антагонистом CD20 является ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления антителом против 4-1BB является PF-05082566. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение ритуксимаба в форме внутривенной дозы 375 мг/м² в 1-й день 28-дневного цикла, PF-05082566 в фиксированной дозе 100 мг в форме 1-часовой внутривенной инфузии на 2-й день каждого цикла и авелумаб в форме 1-часовой внутривенной инфузии на 2-й день и 16-й день каждого цикла в дозе 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение ритуксимаба в форме внутривенной дозы 375 мг/м² в 1-й день 28-дневного цикла, PF-05082566 в фиксированной дозе 100 мг в форме 1-часовой внутривенной инфузии в 1-й день каждого цикла и авелумаб в форме 1-часовой внутривенной инфузии на 2-й день и 16-й день каждого цикла в дозе 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение ритуксимаба в форме внутривенной дозы 375 мг/м² в 1-й день 28-дневного цикла, PF-05082566 в фиксированной дозе 100 мг в форме 1-часовой внутривенной инфузии в 1-й день каждого цикла и авелумаб в форме 1-часовой внутривенной инфузии в 1-й день и 15-й день каждого цикла в дозе 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение ритуксимаба в форме внутривенной дозы 375 мг/м² в 1-й день 28-дневного цикла, PF-05082566 в фиксированной дозе 100 мг в форме 1-часовой внутривенной инфузии на 2-й день каждого цикла и авелумаб в форме 1-часовой внутривенной инфузии в 1-й день и 15-й день каждого цикла в дозе 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления авелумаб вводят по меньшей мере через 3 часа после PF-05082566, если авелумаб и PF-05082566 вводят в один день. В некоторых вариантах осуществления авелумаб вводят приблизительно через 60 минут после PF-05082566, если авелумаб и PF-05082566 вводят в один день. В некоторых вариантах осуществления авелумаб вводят приблизительно через 30 минут после PF-05082566, если авелумаб и PF-05082566 вводят в один день. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой R/R DLBCL.

В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1, антагонист CD20 и бендамустин. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1, антагонист CD20 и бендамустин. В некоторых вариантах осуществления антагонистом PD-L1 является авелумаб, а антагонистом

CD20 является ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение ритуксимаба в дозе 375 мг/м^2 внутривенно в 1-й день 28-дневного цикла, бендамустина в дозе 90 мг/м^2 внутривенно на 2-й день и 3-й день каждого 28-дневного цикла и авелумаба в форме 1-часовой внутривенной инфузии на 2-й день и 16-й день каждого цикла в дозе 10 мг/кг . В некоторых вариантах осуществления способ включает введение ритуксимаба в форме внутривенной дозы 375 мг/м^2 в 1-й день 28-дневного цикла, бендамустина в дозе 90 мг/м^2 внутривенно в 1-й день и 2-й день каждого 28-дневного цикла и авелумаба в форме 1-часовой внутривенной инфузии на 2-й день и 16-й день каждого цикла в дозе 10 мг/кг . В некоторых вариантах осуществления способ включает введение ритуксимаба в форме внутривенной дозы 375 мг/м^2 в 1-й день 28-дневного цикла, бендамустина в дозе 90 мг/м^2 внутривенно на 2-й день и 3-й день каждого 28-дневного цикла и авелумаба в форме 1-часовой внутривенной инфузии в 1-й день и 15-й день каждого цикла в дозе 10 мг/кг . В некоторых вариантах осуществления способ включает введение ритуксимаба в форме внутривенной дозы 375 мг/м^2 в 1-й день 28-дневного цикла, бендамустина в дозе 90 мг/м^2 внутривенно в 1-й день и 2-й день каждого 28-дневного цикла и авелумаба в форме 1-часовой внутривенной инфузии в 1-й день и 15-й день каждого цикла в дозе 10 мг/кг . В некоторых вариантах осуществления авелумаб вводят по меньшей мере через 3 часа после бендамустина, если авелумаб и бендамустин вводят в один день. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой R/R DLBCL.

В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1, азацитидин и антитело против 4-1BB. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего авелумаб, азацитидин и PF-05082566. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение азацитидина в дневной дозе 75 мг/м^2 подкожно (SC) каждый день с 1-го по 7-й дни 28-дневного цикла, PF-05082566 в фиксированной дозе 100 мг в форме 1-часовой внутривенной инфузии на 2-й день каждого цикла и авелумаба в форме 1-часовой внутривенной инфузии на 2-й день и 16-й день каждого цикла в дозе 10 мг/кг . В некоторых вариантах осуществления способ включает введение азацитидина в дневной дозе 75 мг/м^2 SC каждый день с 1-го по 7-й дни 28-дневного цикла, PF-05082566 в фиксированной дозе 100 мг в форме 1-часовой внутривенной инфузии в 1-й день каждого цикла и авелумаба в форме 1-часовой внутривенной инфузии на 2-й день и 16-й день каждого цикла в дозе 10 мг/кг . В некоторых вариантах осуществления способ включает введение азацитидина в дневной дозе 75 мг/м^2 SC каждый день с 1-го по 7-й дни 28-дневного цикла, PF-05082566 в фиксированной дозе 100 мг в форме 1-часовой внутривенной инфузии в 1-й день каждого цикла и авелумаб в форме 1-часовой внутривенной инфузии в 1-й день и 15-й день каждого цикла в дозе 10 мг/кг . В некоторых вариантах осуществления способ включает введение азацитидина в дневной дозе 75 мг/м^2 SC каждый день с 1-го по 7-й дни 28-дневного цикла, PF-05082566 в фиксированной дозе 100 мг в форме 1-часовой внутривенной инфузии на 2-й день каждого цикла и авелумаба в форме 1-часовой внутривенной инфузии в 1-й день и 15-й день каждого цикла в дозе 10 мг/кг . В некоторых вариантах осуществления в дни, когда авелумаб вводят в те же дни, что и азацитидин, авелумаб вводят по меньшей мере через 3 часа после введения азацитидина. В некоторых вариантах осуществления авелумаб

вводят по меньшей мере через 3 часа после PF-05082566, если авелумаб и PF-05082566 вводят в один день. В некоторых вариантах осуществления авелумаб вводят приблизительно через 60 минут после PF-05082566, если авелумаб и PF-05082566 вводят в один день. В некоторых вариантах осуществления авелумаб вводят приблизительно
 5 через 30 минут после PF-05082566, если авелумаб и PF-05082566 вводят в один день. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой R/R DLBCL.

В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего авелумаб и PF-05082566. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой запущенную форму
 10 NSCLC, RCC или уротелиального рака, которая была резистентной (ответ с последующим прогрессированием) или рефрактерной (без ответа) к ранее применявшимся способам терапии, включая, например, ингибитор контрольной точки иммунного ответа в качестве монотерапии (например, лечение антителом против PD-1, антителом против PD-L1 или антителом против CTLA-4). В некоторых вариантах
 15 осуществления авелумаб вводят в форме 1-часовой внутривенной инфузии каждые 2 недели в дозе 10 мг/кг, PF-05082566 вводят в фиксированной дозе 10 мг в форме 1-часовой внутривенной инфузии раз в четыре недели в 1-й день каждого цикла и в дни, когда вводят как авелумаб, так и PF-05082566, сначала вводят PF-05082566, а затем авелумаб путем инфузии в течение 30 минут после окончания инфузии PF-05082566.

В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего авелумаб, и химиорадиотерапию. В некоторых вариантах осуществления химиорадиотерапия
 20 включает цисплатин и радикальную лучевую терапию. В некоторых вариантах осуществления субъект страдает от местнораспространенной плоскоклеточной карциномы головы и шеи (SCCHN). В некоторых вариантах осуществления SCCHN ограничивается ротовой полостью, ротоглоткой, глоткой или гортаноглоткой. В некоторых вариантах осуществления способ включает вводную фазу и фазу химиорадиотерапии (CRT), причем вводная фаза начинается за семь дней до начала
 25 фазы CRT. В некоторых вариантах осуществления авелумаб вводят в дозе 10 мг/кг в 1-й день вводной фазы и на 8-й, 29-й и 39-й дни фазы CRT; цисплатин вводят в дозе 100 мг/м² в 1-й день, 22-й и 23-й дни фазы CRT; и лучевая терапия представляет собой лучевую терапию с модулированной интенсивностью (IMRT) 70 Гр/33-35 фракций/день, 5 фракций/неделю. В некоторых вариантах осуществления способ включает
 30 поддерживающую фазу, которая начинается через две недели после завершения фазы CRT. В некоторых вариантах осуществления поддерживающая фаза включает введение авелумаба в дозе 10 мг/кг каждые две недели (Q2W) после завершения фазы CRT.

При всех из вышеупомянутых способов лечения, медикаментах и способах применения антагонист PD-L1 ингибирует связывание PD-L1 с PD-1. В некоторых вариантах
 40 осуществления вышеупомянутых способов лечения, медикаментов и способов применения антагониста PD-L1 является моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывается с PD-L1 или с PD-1 и блокирует связывание PD-L1 с PD-1. В некоторых вариантах осуществления антагонист PD-L1 является антителом против PD-L1, которое включает три гипервариабельных участка (CDR) из вариабельной области тяжелой цепи, включающей аминокислотную
 45 последовательность, показанную в SEQ ID NO: 8, и три CDR из вариабельной области легкой цепи, включающей аминокислотные последовательности, показанные в SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления антагонист PD-L1 является антителом против PD-L1, которое включает вариабельные области тяжелой и легкой цепи,

включающие аминокислотные последовательности, показанные в SEQ ID NO: 8 и SEQ ID NO: 9, соответственно.

В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает медикамент, включающий антагонист PD-L1 для применения в комбинации с антителом против 4-1BB для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает медикамент, включающий антитело против 4-1BB для применения в комбинации с антагонистом PD-L1 для лечения рака.

Другие варианты осуществления предусматривают применение антагониста PD-L1 в производстве медикамента для лечения рака у субъекта при введении в комбинации с антителом против 4-1BB и применение антитела против 4-1BB в производстве медикамента для лечения рака у субъекта при введении в комбинации с антагонистом PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления изобретение предусматривает применение антагониста PD-L1 и антитела против 4-1BB в производстве медикаментов для лечения рака у субъекта. В некоторых вариантах осуществления медикаменты включают комплект, и комплект также включает листок-вкладыш в упаковке, содержащий инструкции по применению антагониста PD-L1 в комбинации с антителом против 4-1BB для лечения рака у субъекта.

В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает медикамент, включающий антагонист PD-L1 для применения в комбинации с антителом против M-CSF для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает медикамент, включающий антитело против M-CSF для применения в комбинации с антагонистом PD-L1 для лечения рака.

Другие варианты осуществления предусматривают применение антагониста PD-L1 в производстве медикамента для лечения рака у субъекта при введении в комбинации с антителом против M-CSF и применение антитела против M-CSF в производстве медикамента для лечения рака у субъекта при введении в комбинации с антагонистом PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления изобретение предусматривает применение антагониста PD-L1 и антитела против M-CSF в производстве медикаментов для лечения рака у субъекта. В некоторых вариантах осуществления медикаменты включают комплект, и комплект также включает листок-вкладыш в упаковке, содержащий инструкции по применению антагониста PD-L1 в комбинации с антителом против M-CSF для лечения рака у субъекта.

В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает медикамент, включающий антагонист PD-L1 для применения в комбинации с антителом против OX40 для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает медикамент, включающий антитело против OX40 для применения в комбинации с антагонистом PD-L1 для лечения рака.

Другие варианты осуществления предусматривают применение антагониста PD-L1 в производстве медикамента для лечения рака у субъекта при введении в комбинации с антителом против OX40 и применение антитела против OX40 в производстве медикамента для лечения рака у субъекта при введении в комбинации с антагонистом PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления изобретение предусматривает применение

антагониста PD-L1 и антитела против OX40 в производстве медикаментов для лечения рака у субъекта. В некоторых вариантах осуществления медикаменты включают комплект, и комплект также включает листок-вкладыш в упаковке, содержащий инструкции по применению антагониста PD-L1 в комбинации с антителом против OX40 для лечения рака у субъекта.

В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает медикамент, включающий антагонист PD-L1 для применения в комбинации с антителом против M-CSF для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает медикамент, включающий антитело против M-CSF для применения в комбинации с антагонистом PD-L1 для лечения рака.

Другие варианты осуществления предусматривают применение антагониста PD-L1 в производстве медикамента для лечения рака у субъекта при введении в комбинации с антителом против M-CSF и применение антитела против M-CSF в производстве медикамента для лечения рака у субъекта при введении в комбинации с антагонистом PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления изобретение предусматривает применение антагониста PD-L1 и антитела против M-CSF в производстве медикаментов для лечения рака у субъекта. В некоторых вариантах осуществления медикаменты включают комплект, и комплект также включает листок-вкладыш в упаковке, содержащий инструкции по применению антагониста PD-L1 в комбинации с антителом против M-CSF для лечения рака у субъекта.

В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает медикамент, включающий антагонист PD-L1 для применения в комбинации с антителом против OX40 для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает медикамент, включающий антитело против OX40 для применения в комбинации с антагонистом PD-L1 для лечения рака.

Другие варианты осуществления предусматривают применение антагониста PD-L1 в производстве медикамента для лечения рака у субъекта при введении в комбинации с антителом против OX40 и применение антитела против OX40 в производстве медикамента для лечения рака у субъекта при введении в комбинации с антагонистом PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления изобретение предусматривает применение антагониста PD-L1 и антитела против OX40 в производстве медикаментов для лечения рака у субъекта. В некоторых вариантах осуществления медикаменты включают комплект, и комплект также включает листок-вкладыш в упаковке, содержащий инструкции по применению антагониста PD-L1 в комбинации с антителом против OX40 для лечения рака у субъекта.

В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает медикамент, включающий антагонист PD-L1 для применения в комбинации с антителом против 4-1BB и антителом против M-CSF для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает медикамент, включающий антитело против 4-1BB и антитело против M-CSF для применения в комбинации с антагонистом PD-L1 для лечения рака.

Другие варианты осуществления предусматривают применение антагониста PD-L1 в производстве медикамента для лечения рака у субъекта при введении в комбинации с антителом против 4-1BB и антителом против M-CSF и применение антитела против

4-1BB и антитела против M-CSF в производстве медикамента для лечения рака у субъекта при введении в комбинации с антагонистом PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления изобретение предусматривает применение антагониста PD-L1 и антитела против 4-1BB и антитела против M-CSF в производстве медикаментов для лечения рака у субъекта. В некоторых вариантах осуществления медикаменты включают комплект, и комплект также включает листок-вкладыш в упаковке, содержащий инструкции по применению антагониста PD-L1 в комбинации с антителом против 4-1BB и антителом против M-CSF для лечения рака у субъекта.

В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает медикамент, включающий антагонист PD-L1 для применения в комбинации с антителом против 4-1BB и антителом против OX40 для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает медикамент, включающий антитело против 4-1BB и антитело против OX40 для применения в комбинации с антагонистом PD-L1 для лечения рака.

Другие варианты осуществления предусматривают применение антагониста PD-L1 в производстве медикамента для лечения рака у субъекта при введении в комбинации с антителом против 4-1BB и антителом против OX40 и применение антитела против 4-1BB и антитела против OX40 в производстве медикамента для лечения рака у субъекта при введении в комбинации с антагонистом PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления изобретение предусматривает применение антагониста PD-L1 и антитела против 4-1BB и антитела против OX40 в производстве медикаментов для лечения рака у субъекта. В некоторых вариантах осуществления медикаменты включают комплект, и комплект также включает листок-вкладыш в упаковке, содержащий инструкции по применению антагониста PD-L1 в комбинации с антителом против 4-1BB и антителом против OX40 для лечения рака у субъекта.

Во всех вышеупомянутых способах лечения, медикаментах и способах применения антагонист PD-L1 ингибирует связывание PD-L1 с PD-1. В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутых способов лечения, медикаментов и способов применения антагонистом PD-L1 является моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывается с PD-L1 или с PD-1 и блокирует связывание PD-L1 с PD-1. В некоторых вариантах осуществления антагонист PD-L1 является антителом против PD-L1, которое включает три CDR из вариательной области тяжелой цепи, включающей аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 8, и три CDR из вариательной области легкой цепи, включающей аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления антагонист PD-L1 является антителом против PD-L1, которое включает вариательные области тяжелой и легкой цепи, включающие аминокислотные последовательности, показанные в SEQ ID NO: 8 и SEQ ID NO: 9, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антителом против PD-L1 является авелумаб.

В некоторых вариантах осуществления антитело против 4-1BB может включать вариательную область тяжелой цепи, включающую три CDR из вариательной области тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 18, и вариательную область легкой цепи, включающую три CDR из вариательной области легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 19. В некоторых вариантах осуществления антитело против 4-1BB может включать вариательные области тяжелой и легкой цепи, включающие аминокислотные последовательности, показанные в SEQ ID NO: 18 и SEQ ID NO: 19, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антителом против 4-1BB является PF-05082566.

В некоторых вариантах осуществления антитело против М-CSF может включать переменную область тяжелой цепи, включающую три CDR из переменной области тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 30, и переменную область легкой цепи, включающую три CDR из переменной области легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 31. В некоторых вариантах осуществления антитело против М-CSF может включать переменные области тяжелой и легкой цепи, включающие аминокислотные последовательности, показанные в SEQ ID NO: 30 и SEQ ID NO: 31, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антителом против М-CSF является PD-0360324.

В некоторых вариантах осуществления антитело против OX40 может включать переменную область тяжелой цепи, включающую три CDR из переменной области тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 38, и переменную область легкой цепи, включающую три CDR из переменной области легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 39. В некоторых вариантах осуществления антитело против OX40 может включать переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 38, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 39. В некоторых вариантах осуществления антителом против OX40 является PF-04518600.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутых способов лечения, медикаментов и применения изобретения субъектом является человек, и рак представляет собой солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления солидной опухолью является почечноклеточная карцинома (RCC), рак мочевого пузыря, рак молочной железы, светлоклеточный рак почки, плоскоклеточная карцинома головы / шеи (SCCHN), плоскоклеточная карцинома легкого, злокачественная меланома, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), рак яичников, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, мелкоклеточный рак легкого (SCLC) или тройной негативный рак молочной железы.

В других вариантах осуществления вышеупомянутых способов лечения, медикаментов и применения изобретения субъектом является человек, и рак представляет собой гемовую злокачественность и в некоторых вариантах осуществления гемовой злокачественностью является острый лимфобластный лейкоз (ALL), острый миелоидный лейкоз (AML), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), хронический миелоидный лейкоз (CML), диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (DLBCL), EBV-позитивная DLBCL, первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома, Т-клеточная / богатая гистиоцитами В-крупноклеточная лимфома, фолликулярная лимфома, лимфома Ходжкина (HL), лимфома из клеток мантии (MCL), множественная миелома (MM), белок миелоидных клеток лейкоза-1 (Mcl-1), миелодиспластический синдром (MDS), неходжкинская лимфома (NHL) или мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (SLL).

Также в некоторых вариантах осуществления любых из вышеупомянутых способов лечения, медикаментов и способов применения рак обнаруживает положительный результат теста на экспрессию одного или обоих из PD-L1 и PD-L2. В других вариантах осуществления рак имеет повышенную экспрессию PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутых способов лечения, медикаментов и способов применения субъектом является человек, и рак представляет собой RCC, который обнаруживает положительный результат теста на человеческий PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутых способов лечения, медикаментов и способов применения рак представляет собой запущенную форму RCC светлоклеточного подтипа и присутствует в организме человека, который ранее не подвергался лечению от RCC.

5 В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутых способов лечения, медикаментов и способов применения рак представляет собой рецидивный или рефрактерный (R/R) рак. В некоторых вариантах осуществления рак R/R представляет собой R/R DLBCL.

10 В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутых способов лечения, медикаментов и способов применения рак представляет собой местнораспространенный рак. В некоторых вариантах осуществления местнораспространенный рак является местнораспространенным SCCN. В некоторых вариантах осуществления SCCN ограничивается ротовой полостью, ротоглоткой, глоткой или гортаноглоткой.

Краткое описание фигур

15 Фигура 1 показывает график, представляющий инфильтрацию Т-клеток в ответ на лечение.

Фигура 2 показывает график, представляющий соотношение CD8+ Т-клеток / Treg в ответ на лечение.

Фигура 3 показывает график, представляющий индукцию Eomes в ответ на лечение.

20 Подробное описание изобретения

I. Определения

Для лучшего понимания изобретения ниже представлены конкретные определения некоторых технических и научных терминов. Если в этом документе нет иных определений, все технические и научные термины, применяемые авторами, имеют значения, которые являются общепринятыми среди специалистов в области, к которой относится это изобретение.

"Приблизительно" применительно к определению числового параметра (например, дозы антагониста PD-L1 или ингибитора VEGFR или длительности времени лечения с применением описываемой авторами комбинированной терапии) означает, что параметр может колебаться в пределах 10% ниже или выше указанного числового значения для этого параметра. Например, доза приблизительно 5 мг/кг может колебаться в пределах от 4,5 мг/кг до 5,5 мг/кг.

35 В контексте данной заявки, включая прилагаемую формулу изобретения, формы единственного числа включают и соответствующие упоминания во множественном числе, если контекстом явно не предусмотрено иное.

"Введение", "лечение" или "обработка" по отношению к животному, человеку, экспериментальному субъекту, клетке, ткани, органу или биологической жидкости означает контакт экзогенного фармацевтического, терапевтического, диагностического агента или композиции с организмом животного, человека, субъекта, клеткой, тканью, 40 органом или биологической жидкостью. Обработка клетки охватывает контакт реагента с клеткой, а также контакт реагента с жидкостью, если жидкость контактирует с клеткой. "Введение" и "лечение" также означает обработку *in vitro* и *ex vivo*, например, клетки реагентом, диагностическим средством, связующим соединением или другой клеткой. Термин "субъект" охватывает любой организм, предпочтительно животное, более 45 предпочтительно - млекопитающее (например, крысу, мышь, собаку, кошку, кролика), наиболее предпочтительно - человека.

"Антитело" представляет собой молекулу иммуноглобулина, способную специфически связываться с мишенью, такой, как углевод, полинуклеотид, липид, полипептид и т.п.,

через по меньшей мере один сайт распознавания антигена, расположенный в
 5 вариабельном участке молекулы иммуноглобулина. В контексте данной заявки термин
 охватывает не только интактные поликлональные или моноклональные антитела, но
 и их фрагменты (такие, как Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), одноцепочечные (scFv) и доменные
 10 антитела (включая, например, антитела акулы и верблюдовых) и слитые белки,
 включающие антитело, и любая другая модифицированная конфигурация молекулы
 иммуноглобулина, которая включает сайт распознавания антигена. Антитело означает
 антитело любого класса, такое, как IgG, IgA или IgM (или его подкласса), и антитело
 15 не обязательно должно относиться к какому-то конкретному классу. В зависимости
 от аминокислотной последовательности антитела константного участка его тяжелых
 цепей иммуноглобулина могут быть отнесены к разным классам. Существует пять
 главных классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, и некоторые из них могут
 дополнительно разделяться на подклассы (изотипы), например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4,
 IgA1 и IgA2. Тяжелопепочечные константные участки, соответствующие разным классам
 20 иммуноглобулинов, называются альфа, дельта, эпсилон, гамма и мю, соответственно.
 Структуры субъединиц и трехмерные конфигурации разных классов иммуноглобулинов
 общеизвестны.

Термин "антигенсвязывающий фрагмент" или "антигенсвязывающая часть" антитела
 в контексте данной заявки означает один или несколько фрагментов интактного
 25 антитела, которые сохраняют способность к специфичному связыванию с данным
 антигеном (например, PD-L1). Антигенсвязывающие функции антитела могут
 выполняться фрагментами интактного антитела. Примерами связывающих фрагментов,
 охватываемых термином "антигенсвязывающий фрагмент" антитела, могут быть Fab;
 Fab'; F(ab')₂; фрагмент Fd, состоящий из VH и CH1 доменов; фрагмент Fv, состоящий
 30 из VL и VH доменов отдельной области антитела; фрагмент однодоменного антитела
 (dAb) (Ward et al., Nature 341: 544-546, 1989) и выделенный гипервариабельный участок
 (CDR).

Антитело, конъюгат антитела или полипептид, который "предпочтительно
 связывается" или "специфически связывается" (взаимозаменяемые термины в контексте
 35 данного описания) с мишенью (например, белком PD-L1) является термином, хорошо
 известным специалистам в данной области, и способы определения такого
 специфического или преимущественного связывания также хорошо известны
 специалистам в данной области. Считается, что молекула демонстрирует "специфическое
 связывание" или "предпочтительное связывание", если она реагирует, или ассоциируется
 40 чаще, быстрее, более длительно и/или с большей аффинностью с конкретной клеткой
 или веществом, чем с альтернативными клетками или веществами. Антитело
 "специфически связывается" или "предпочтительно связывается" с мишенью, если оно
 связывается с большей аффинностью, авидностью, с большей легкостью и/или более
 длительно, чем с другими веществами. Например, антитело, которое специфически или
 45 предпочтительно связывается с эпитопом PD-L1, является антителом, которое
 связывается с этим эпитопом с большей аффинностью, авидностью, с большей легкостью
 и/или более длительно, чем с другими эпитопами PD-L1 или не связанными с PD-L1
 эпитопами. Также под этим определением следует понимать, что, например, антитело
 (или часть или эпитоп), которое специфически или предпочтительно связывается с
 50 первой мишенью, не обязательно специфически или предпочтительно связывается со
 второй мишенью. Как таковое, "специфическое связывание" или "предпочтительное
 связывание" не обязательно требует (хотя и может включать) исключительное
 связывание. Как правило, хотя и не обязательно, ссылка на связывание означает

предпочтительное связывание.

"Вариабельный участок" антитела означает вариабельный участок легкой цепи антитела или вариабельный участок тяжелой цепи антитела, отдельно или в комбинации. Как известно специалистам в данной области, каждый из вариабельных участков тяжелой и легкой цепи состоит из четырех каркасных участков (FR), соединенных тремя гипервариабельными участками (CDR), также известными как гипервариабельные участки. CDR в каждой цепи поддерживаются в тесной близости каркасными участками и с гипервариабельными участками из другой цепи способствуют образованию участков связывания антигена антител. Существует по меньшей мере два способа определения CDR: (1) подход, основывающийся на межвидовой изменчивости последовательностей (т.е., Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, (5th ed., 1991, National Institutes of Health, Bethesda MD)); и (2) подход, основывающийся на кристаллографических исследованиях комплексов антиген-антитело (Al-lazikani et al., 1997, J. Molec. Biol. 273: 927-948). В контексте данной заявки CDR может означать гипервариабельные участки, определенные любым из способов или при помощи комбинации обоих подходов.

"CDR" вариабельного домена представляет собой аминокислотные остатки в пределах вариабельного участка, распознанные в соответствии с определениями Kabat, Chothia, путем сочетания двух способов Kabat и Chothia, AbM, контакта и/или конформационных определений любого способа определения CDR, хорошо известного специалистам в данной области. CDR антитела могут быть распознаны как гипервариабельные участки, первоначально определенные Kabat et al. См., например, Kabat et al., 1992, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, NIH, Washington D.C. Позиции CDR также могут быть определены как конструкции структурных петель, первоначально описанные Chothia с соавторами. См., например, Chothia et al., Nature 342: 877-883, 1989. Другие подходы к распознаванию CDR включают "определение AbM", которое представляет собой компромисс между Kabat и Chothia и было выведено с использованием программы моделирования антител AbM от Oxford Molecular (ныне известной как Accelrys®), или "контактного определения" CDR на основе наблюдаемых антигенных контактов, изложенных в публикации MacCallum et al., J. Mol. Biol., 262: 732-745, 1996. Согласно еще одному подходу, называемому здесь "конформационным определением" CDR, позиции CDR могут быть распознаны как остатки, вносящие энтальпийный вклад в связывание антигена. См., например, Makabe et al., Journal of Biological Chemistry, 283: 1156-1166, 2008. Другие способы определения границ CDR не обязательно требуют строгого следования одному из вышеупомянутых подходов, тем не менее, по меньшей мере частично совпадают с CDR согласно Kabat, хотя они могут быть сокращенными или удлиненными с учетом прогнозов или результатов экспериментов, согласно которым конкретные остатки или группы остатков или даже полные CDR не оказывают значительного воздействия на связывание антигена. В контексте данной заявки CDR могут означать гипервариабельные участки, определяемые известными специалистам способами, включая комбинации способов. Согласно применяемым авторами способам, могут использоваться CDR, определяемые в соответствии с этими подходами. Для любого варианта осуществления, предусматривающего более одного CDR, CDR могут определяться в соответствии с Kabat, Chothia, при помощи продления, AbM, контакта и/или конформационного определения.

Термины "выделенное антитело" и "фрагмент выделенного антитела" относятся к очищенному состоянию и в этом контексте означают, что указанная молекула

практически очищена от других биологических молекул, таких, как нуклеиновые кислоты, белки, липиды, углеводы или другие материалы, такие, как клеточный дебрис и среда для выращивания. Как правило, термин "выделенное" означает не полное отсутствие такого материала или отсутствие воды, буферов или солей, если они не присутствуют в количестве, которое существенно препятствует экспериментальному или терапевтическому применению связующего соединения, как описывается авторами.

Термины "моноклональное антитело" или "mAb" или "Mab" в контексте данной заявки относятся к популяции практически гомогенных антител, т.е., молекулы антител, включающие популяцию, являются идентичными по аминокислотной

последовательности, за исключением возможных природных мутаций, которые могут присутствовать в незначительном количестве. В отличие от него, препараты традиционных (поликлональных) антител, как правило, включают множество различных антител, имеющих разные аминокислотные последовательности в их переменных доменах, в частности, их CDR, которые часто являются специфичными к различным эпитопам. Определение "моноклональное" указывает на характер антитела как получаемого из по сути однородной популяции антител, и не должно истолковываться как требующее выработки антитела каким-либо конкретным способом. Например, моноклональные антитела, применяемые в соответствии с настоящим изобретением, могут быть получены гибридным способом, впервые описанным в публикации Kohler et al. (1975) *Nature* 256: 495, или могут быть получены способами рекомбинантных ДНК (см., например, Патент США №4,816,567). "Моноклональные антитела" также могут быть выделены из фаговых библиотек антител с применением способов, описанных, например, в публикациях Clackson et al. (1991) *Nature* 352: 624-628 и Marks et al. (1991) *J. Mol. Biol.* 222: 581-597. См. также Presta (2005) *J. Allergy Clin. Immunol.* 116: 731.

"Химерное антитело" означает антитело, в котором часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителе, взятом из конкретного вида (например, человека) или относящемся к конкретному классу или подклассу антител, тогда как остальная часть цепи(ей) является идентичной или гомологичной соответствующим последовательностям в антителе, взятом из другого вида (например, мыши) или относящемся к другому классу или подклассу антител, а также фрагменты таких антител, при условии, что они демонстрируют нужную биологическую активность.

"Человеческое антитело" означает антитело, включающее только белковые последовательности человеческого иммуноглобулина. Человеческое антитело может содержать мышинные углеводные цепи, если оно вырабатывается в организме мыши, в клетках мыши или в гибридоме, производной от клетки мыши. Подобным образом "антитело мыши" или "антитело крысы" означает антитело, включающее лишь последовательности иммуноглобулина мыши или крысы, соответственно.

"Гуманизированное антитело" относится к формам антител, которые содержат последовательности из отличных от человеческих (например, мышинных) антител, а также человеческих антител. Такие антитела содержат минимальную последовательность, взятую из отличного от человеческого иммуноглобулина. В целом гуманизированное антитело должно включать по сути все из по меньшей мере одного, как правило, двух переменных доменов, в которых все или по сути все из гиперпеременных петель соответствуют петлям отличного от человеческого иммуноглобулина, и все или по сути все из FR участков являются участками последовательности человеческого иммуноглобулина. Гуманизированное антитело необязательно также включает по меньшей мере часть константного участка (Fc)

иммуноглобулина, как правило, человеческого иммуноглобулина. Префикс "hum", "hu" или "h" добавляют к обозначению клона антитела, если необходимо указать на отличие гуманизированных антител от исходных антител грызунов. Гуманизированные формы антител грызунов обычно включают одинаковые последовательности CDR исходных антител грызунов, хотя могут быть включены некоторые аминокислотные замещения для повышения аффинности, повышения устойчивости гуманизированного антитела или из других соображений.

Термины "рак", "раковый" или "злокачественный" означают физиологическое состояние у млекопитающих, которое обычно характеризуется нерегулируемым ростом клеток. Примерами рака могут быть, помимо прочих, карцинома, лимфома, лейкоз, бластома и саркома. Более конкретными примерами такого рака являются плоскоклеточная карцинома, миелома, мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, глиома, лимфома Ходжкина, неходжкинская лимфома, острый миелоидный лейкоз (AML), множественная миелома, рак желудочно-кишечного тракта, рак почки, рак яичников, рак печени, лимфобластный лейкоз, лимфоцитарный лейкоз, рак толстой и прямой кишки, рак эндометрия, рак почки, рак предстательной железы, рак щитовидной железы, меланома, хондросаркома, нейробластома, рак поджелудочной железы, мультиформная глиобластома, рак шейки матки, рак головного мозга, рак желудка, рак мочевого пузыря, гепатома, рак молочной железы, карцинома толстой кишки и рак головы и шеи. Другим конкретным примером рака является почечноклеточная карцинома.

"Биотерапевтическое средство" означает биологическую молекулу, такую, как антитело или слитый белок, который блокирует сигнал лиганда / рецептора в любом биологическом пути, который поддерживает сохранение и рост опухоли и/или подавляет противоопухолевый иммунный ответ.

"Химиотерапевтическое средство" представляет собой химическое соединение, применяемое в лечении рака. К классам химиотерапевтических средств относятся, помимо прочих: алкилирующие агенты, антиметаболиты, ингибиторы киназы, растительные алкалоиды веретенового яда, цитотоксические / противоопухолевые антибиотики, ингибиторы топоизомеразы, фотосенсибилизаторы, антиэстрогены и селективные модуляторы рецепторов эстрогена (SERM), антипрогестероны, супрессоры рецепторов эстрогена (ERD), антагонисты рецепторов эстрогена, агонисты рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона, антиандрогены, ингибиторы ароматазы, ингибиторы EGFR, ингибиторы VEGF и антисмысловые олигонуклеотиды, подавляющие экспрессию генов, вовлеченных в аномальную пролиферацию клеток или рост опухоли. Химиотерапевтические средства, применяемые согласно способам лечения в соответствии с настоящим изобретением, включают цитостатические и/или цитотоксические агенты.

"Консервативно модифицированные варианты" или "консервативное замещение" означают замещения аминокислот в белке другими аминокислотами, имеющими подобные характеристики (например, заряд, размер боковой цепи, гидрофобность / гидрофильность, конформацию и жесткость остова и т.п.), и, таким образом, изменения часто могут осуществляться без изменения биологической активности или другого нужного свойства белка, такого, как аффинность и/или специфичность к антигену. Специалисты в данной области признают, что в целом единичные аминокислотные замещения в не являющихся незаменимыми участках полипептида существенно не меняют биологическую активность (см., например, Watson et al. (1987) *Molecular Biology of the Gene*, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4th Ed.)). Кроме того, замещения

структурно или функционально подобных аминокислот с меньшей вероятностью нарушают биологическую активность. Примеры консервативных замещений изложены ниже в Таблице 1.

ТАБЛИЦА 1. Типичные консервативные аминокислотные замещения

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

Фраза "состоит главным образом из" и ее варианты, такие, как "состоять главным образом из" или "состоящий главным образом из", применяемые по всему описанию и в формуле изобретения, указывают на включение любого из упомянутых элементов или группы элементов и необязательное включение других элементов подобного или другого характера по сравнению с упомянутыми элементами, которое существенно не меняет основные или новые свойства указанного режима дозирования, способа или композиции. В качестве неограничивающего примера антагонист PD-L1, который состоит главным образом из упомянутой аминокислотной последовательности, также может включать одну или несколько аминокислот, включая замещения одного или нескольких аминокислотных остатков, которые существенно не влияют на свойства связывающего соединения.

"Диагностическое моноклональное антитело против PD-L1" означает mAb, которое специфически связывается с PD-L1, который экспрессируется на поверхности некоторых клеток млекопитающих. У зрелого PD-L1 отсутствует пресекреторная лидерная последовательность, также называемая лидерным пептидом. Термины "PD-L1" и "зрелый PD-L1" являются взаимозаменяемыми терминами в контексте данного описания и означают одну и ту же молекулу, если иное не указано или не явствует из контекста.

В контексте данной заявки mAb против PD-L1 человека или диагностическое mAb против hPD-L1 означает моноклональное антитело, которое специфически связывается

со зрелым человеческим PD-L1. Молекула зрелого человеческого PD-L1 состоит из аминокислот 19-290 следующей последовательности (SEQ ID NO: 1):

5 MRIFAVFIFMTYWHLNNAFTVTVPKDALYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIVYWE
 MEDKNIIQFVHGEEDLKVQHSSYRQRRARLLKDAQSLGNAALQITDVKLQDAGVYRCMI
 SYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRILVVDPTSEHELTCAEGYPKAEVIWTSSDHQVL
 SGKTTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPELPLAHP
 PNERTHLVILGAILLCLGVALTFIFRLRKGRMMDVKKCGIQDTNSKKQSDTHLEET
 10 (SEQ ID NO: 1) .

"Гомология" означает подобие последовательностей между двумя полипептидными последовательностями при их оптимальном выравнивании. Когда позиция в обеих из сравниваемых последовательностей занята одной и той же аминокислотной мономерной субъединицей, например, в случае, если позиция в CDR легкой цепи двух разных антител занята аланином, то два антитела являются гомологичными в этой позиции. Процент гомологии - это количество гомологичных позиций, общих для двух последовательностей, деленное на общее количество сравниваемых позиций $\times 100$. Например, если 8 из 10 позиций в двух последовательностях совпадают или являются гомологичными при оптимальном выравнивании последовательностей, эти две последовательности на 80% гомологичны. Как правило, сравнение осуществляют тогда, когда две последовательности выравнивают для получения максимального процента гомологии. Например, сравнение может выполняться с использованием алгоритма BLAST, причем параметры алгоритма выбирают таким образом, чтобы получить наибольшее совпадение между соответствующими последовательностями по всей длине соответствующих контрольных последовательностей.

Алгоритмы BLAST, часто используемые для анализа последовательности, представлены в следующих источниках: АЛГОРИТМЫ BLAST: Altschul, S.F., et al., (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410; Gish, W., et al., (1993) Nature Genet. 3: 266-272; Madden, T.L., et al., (1996) Meth. Enzymol. 266: 131-141; Altschul, S.F., et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402; Zhang, J., et al., (1997) Genome Res. 7: 649-656; Wootton, J.C., et al., (1993) Comput. Chem. 17: 149-163; Hancock, J.M. et al., (1994) Comput. Appl. Biosci. 10: 67-70; СИСТЕМЫ ОЦЕНКИ ВЫРАВНИВАНИЯ: Dayhoff, M.O., et al., "A model of evolutionary change in proteins." in Atlas of Protein Sequence and Structure, (1978) vol. 5, suppl. 3. M.O. Dayhoff (ed.), pp. 345-352, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DC; Schwartz, R.M., et al., "Matrices for detecting distant relationships." in Atlas of Protein Sequence and Structure, (1978) vol. 5, suppl. 3." M.O. Dayhoff (ed.), pp. 353-358, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DC; Altschul, S.F., (1991) J. Mol. Biol. 219: 555-565; States, D.J., et al., (1991) Methods 3: 66-70; Henikoff, S., et al., (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10915-10919; Altschul, S.F., et al., (1993) J. Mol. Evol. 36: 290-300; СТАТИСТИКА ВЫРАВНИВАНИЯ: Karlin, S., et al., (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 2264-2268; Karlin, S., et al., (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873-5877; Dembo, A., et al., (1994) Ann. Prob. 22: 2022-2039; and Altschul, S.F. "Evaluating the statistical significance of multiple distinct local alignments." in T Theoretical and Computational Methods in Genome Research (S. Suhai, ed.), (1997) pp. 1-14, Plenum, New York.

Термин "пациент" или "субъект" означает любого субъекта, для которого желательной является терапия, или который участвует в клиническом испытании, эпидемиологическом исследовании или используется в качестве контроля, включая человека или других млекопитающих, таких, как крупный рогатый скот, лошади, собаки и кошки.

"Антагонист PD-L1" означает любое химическое соединение или биологическую

молекулу, которая блокирует связывание PD-L1, экспрессируемого на раковой клетке, с PD-1. Любые способы лечения, медикаменты или применение настоящего изобретения, предполагающие лечение человеческого субъекта, связаны с блокированием антагонистом PD-L1 связывания человеческого PD-L1 с человеческим PD-1.

- 5 Антагонисты PD-L1, применяемые в связи с любыми способами лечения, медикаментами или применению согласно настоящему изобретению, включают моноклональное антитело (mAb), которое специфически связывается с PD-L1, предпочтительно специфически связывается с человеческим PD-L1. MAb может быть человеческим антителом, гуманизированным антителом или химерным антителом и
10 может включать человеческий константный участок. В некоторых вариантах осуществления человеческий константный участок выбирают из группы, к которой относятся константные участки IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, в предпочтительных вариантах осуществления человеческим константным участком является константный участок IgG1 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент
15 выбирают из группы, к которой относятся фрагменты Fab, Fab'-SH, F(ab')₂, scFv и Fv.

- Примеры mAb, которые связываются с человеческим PD-L1 и могут применяться в связи со способами лечения, медикаментами и применением настоящего изобретения, описываются в документах WO 2013079174, WO 2015061668, WO 2010089411, WO/2007/005874, WO/2010/036959, WO/2014/100079, WO 2013/019906, WO/2010/077634 и патентах
20 США Ms 8552154, 8779108 и 8383796. Специфическими mAb против PD-L1 человека, применимыми в качестве антагонистов PD-L1 в связи со способами лечения, медикаментами и применением согласно настоящему изобретению, помимо прочих, могут быть, например: авелумаб (MSB0010718C), ниволумаб (BMS-936558), MPDL3280A (подвергнутое инженерии антитело IgG1 против PD-L1), BMS-936559 (полностью
25 человеческое моноклональное антитело IgG4 против PD-L1), MEDI4736 (подвергнутое инженерии моноклональное антитело IgG1-каппа с тройной мутацией в Fc домене для устранения антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксической активности) и антитело, которое включает вариабельные области тяжелой цепи и легкой цепи SEQ ID NO:24 и SEQ ID NO:21, соответственно, согласно документу WO2013/019906.

- 30 К другим антагонистам PD-L1, применяемым в связи с любыми способами лечения, медикаментами и применением согласно настоящему изобретению, относится иммуноадгезин, который специфически связывается с PD-L1, предпочтительно специфически связывается с человеческим PD-L1, например, слитый белок, содержащий связывающуюся с PD-L1 часть PD-1, слитого с константным участком, таким, как Fc
35 участок молекулы иммуноглобулина.

Ниже в Таблице 2 представлены типичные последовательности антител против PD-L1 для применения в связи со способами лечения, медикаментами и применением согласно настоящему изобретению.

40

45

**Таблица 2. ТИПИЧНЫЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ
МОНОКЛОНАЛЬНОГО АНТИТЕЛА ПРОТИВ PD-L1 ЧЕЛОВЕКА**

5	CDR1 тяжелой цепи (CDRH1)	SYIMM (SEQ ID NO:2)
	CDR2 тяжелой цепи (CDRH2)	SIYPSGGITFY (SEQ ID NO:3)
10	CDR3 тяжелой цепи (CDRH3)	IKLGTVTTVDY (SEQ ID NO:4)
	CDR1 легкой цепи (CDRL1)	TGTSSDVGGYNYVS (SEQ ID NO:5)
15	CDR2 легкой цепи (CDRL2)	DVSNRPS (SEQ ID NO:6)
	CDR3 легкой цепи (CDRL3)	SSYTSSSTRV (SEQ ID NO:7)
20	Вариабельная область тяжелой цепи (VR)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEW VSSIYPSGGITFYADKGRFTISRDN SKNTLIQLQMNSLR AEDTAVYYC ARIKLGTVTTVDYWGQGT LTVSS (SEQ ID NO: 8)
	VR легкой цепи	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT SSSTRVFGTGTKVTVL (SEQ ID NO: 9)

25	Тяжелая цепь	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEW VSSIYPSGGITFYADTVKGRFTISRDN SKNTLIQLQMNSLR AEDTAVY YCARIKLGTVTTVDYWGQGT LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDAYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDATLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW 30 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 10)
35	Легкая цепь	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT SSSTRVFGTGTKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSIILSLTPEQ WKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 11)

Экспрессия "PD-L1" в контексте данного описания означает любой обнаружимый уровень экспрессии белка PD-L1 на поверхности клетки PD-L1 мРНК в пределах клетки или ткани. Экспрессия белка PD-L1 может быть обнаружена при помощи диагностического антитела против PD-L1 в анализе ИHC среза опухолевой ткани или путем проточной цитометрии. В альтернативном варианте экспрессия белка PD-L1 опухолевыми клетками может быть обнаружена при помощи ПЭТ-изображения с использованием связывающего агента (например, фрагмента антитела, аффитела и т.п.), который специфически связывается с PD-L1. Способы обнаружения и измерения экспрессии мРНК PD-L1 включают RT-PCR и количественную RT-PCR в реальном времени.

Были описаны разные подходы к количественному определению экспрессии белка

PD-L1 в ИHC анализах срезов опухолевых тканей. См., например, Thompson, R.H., et al., PNAS 101 (49): 17174-17179 (2004); Thompson, R.H. et al., Cancer Res. 66: 3381-3385 (2006); Gadiot, J., et al., Cancer 117: 2192-2201 (2011); Taube, J.M. et al., Sci Transl Med 4, 127ra37 (2012); и Toplian, S.L. et al., New Eng. J Med. 366 (26): 2443-2454 (2012).

5 Один подход предусматривает использование простой бинарной конечной точки положительного или отрицательного показателя в отношении экспрессии PD-L1, причем положительный результат определяется в процентах опухолевых клеток, демонстрирующих гистологические проявления окрашивания поверхностной клеточной мембраны. Срез опухолевой ткани считается положительным при экспрессии PD-L1
10 по меньшей мере 1%, предпочтительно - 5% от всех опухолевых клеток.

Согласно другому подходу, экспрессию PD-L1 в срезе опухолевой ткани количественно определяют в опухолевых клетках, а также в инфильтрирующих иммунных клетках, к которым преимущественно относятся лимфоциты. Процент опухолевых клеток и инфильтрирующих иммунных клеток, демонстрирующих
15 окрашивание мембраны, отдельно определяется как <5%, от 5 до 9%, а затем с приращением 10% до 100%. Для опухолевых клеток экспрессия PD-L1 считается отрицательной, если показатель составляет <5%, и положительной, если показатель составляет $\geq 5\%$. Экспрессия PD-L1 в иммунном инфильтрате указывается как полуколичественная мера, называемая уточненным показателем воспаления (AIS),
20 который определяется путем умножения процента окрашивающих мембрану клеток на интенсивность инфильтрата, которая разделяется по степеням как нулевая (0), легкая (показатель 1, редкие лимфоциты), умеренная (показатель 2, фокальная инфильтрация опухоли гистиолимфоцитарными агрегатами) или тяжелая (показатель 3, диффузная инфильтрация). Срез опухолевой ткани считается положительным в отношении
25 экспрессии PD-L1 иммунными инфильтратами, если AIS составляет ≥ 5 .

Уровень экспрессии мРНК PD-L1 сравнивают с уровнем экспрессии мРНК одного или нескольких контрольных генов, которые часто используют в количественной RT-PCR, таких, как убиквитин С.

В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии PD-L1 (белок и/или мРНК)
30 злокачественными клетками и/или инфильтрирующими иммунными клетками в пределах опухоли определяют как "сверхэкспрессированный" или "повышенный" на основе сравнения с уровнем экспрессии PD-L1 (белка и/или мРНК) соответствующим контролем. Например, контрольный уровень экспрессии белка PD-L1 или мРНК может быть уровнем, количественно определенным незлокачественными клетками того же типа
35 или в срезе соответствующей нормальной ткани.

"Критерии оценки ответа RECIST 1.1" в контексте данного описания означают определения, изложенные в публикации Eisenhauer et al., E.A. et al., Eur. J Cancer 45: 228-247 (2009) для целевых поражений или нецелевых поражений, в зависимости от обстоятельств, на основе окружения, в котором измеряется ответ.

40 "Устойчивый ответ" означает устойчивый терапевтический эффект после прекращения лечения терапевтическим средством или с применением описанной авторами комбинированной терапии. В некоторых вариантах осуществления устойчивый ответ по длительности по меньшей мере равен длительности лечения или является по меньшей мере в 1,5, 2,0, 2,5 или 3 раза более длительным, чем лечение.

45 "Срез ткани" означает отдельную часть или фрагмент образца ткани, например, тонкий срез ткани, взятый из образца нормальной ткани или опухоли.

"Лечить" или "лечение" рака в контексте данного описания означает введение в рамках комбинированной терапии антагониста PD-L1 или другого терапевтического

средства субъекту, страдающему от рака, или субъекту, у которого диагностирован рак, для достижения по меньшей мере одного положительного терапевтического эффекта, такого, как, например, уменьшение количества раковых клеток, уменьшение размера опухоли, снижение интенсивности инфильтрации раковых клеток в периферические органы или снижение интенсивности метастазов опухоли или роста опухоли. Положительные терапевтические эффекты при раке могут измеряться многими способами (см. W.A. Weber, J. Nucl. Med. 50: 1S - 10S (2009)). Например, по отношению к подавлению роста опухоли в соответствии со стандартами Национального института рака (NCI) показатель T/C, меньший или равный 42%, является минимальным уровнем противоопухолевой активности. T/C < 10% считается высоким уровнем противоопухолевой активности, причем $T/C (\%) = \frac{\text{средний объем опухоли после лечения}}{\text{контрольный средний объем опухоли}} \times 100$. В некоторых вариантах осуществления лечение, которое достигалось с применением комбинации согласно изобретению, означает частичный ответ (PR), полный ответ (CR), общий ответ (OR), выживаемость без прогрессирования (PFS), выживаемость без рецидивов (DFS) и общая выживаемость (OS). PFS, которую также называют "временем до прогрессирования опухоли", указывает на длительность периода во время и после лечения, в течение которого опухоль не растет, и указывает на длительность периода, в течение которого у пациентов наблюдается CR или PR, а также длительность периода, в течение которого у пациентов наблюдается стабильное заболевание (SD). DFS означает длительность периода во время и после лечения, в течение которого болезнь у пациента отсутствует. OS означает продление ожидаемой продолжительности жизни по сравнению с не получавшими лечения субъектами или пациентами. В некоторых вариантах осуществления ответ на применение комбинации в соответствии с изобретением означает PR, CR, PFS, DFS, OR или OS, который определяют с применением Критериев оценки ответа при солидных опухолях (RECIST) 1.1. Режим лечения для комбинации согласно изобретению, который эффективен для лечения страдающего от рака пациента, может меняться в зависимости от таких факторов, как течения заболевания, возраста и массы тела пациента, а также от способности терапии к вызыванию противоракового ответа у субъекта. Хотя осуществление любого из аспектов изобретения может быть неэффективным для достижения положительного терапевтического эффекта у каждого субъекта, оно должно сделать его таковым у статистически значимого количества субъектов согласно определению при помощи любого статистического критерия, известного специалистам в данной области, такого, как t-критерий Стьюдента, критерий хи-квадрат, U-критерий Манна-Уитни, критерий Краскела-Уоллиса (H-критерий), критерий Джонкхиера-Терпстра и критерий Уилкоксона.

Термины "режим лечения", "протокол дозирования" и "режим дозирования" применяются взаимозаменяемо и касаются дозы и времени введения каждого терапевтического средства в комбинации согласно изобретению.

В контексте данной заявки "лечение" означает подход к достижению благоприятных или желаемых клинических результатов. С точки зрения этого изобретения к благоприятным или желаемым клиническим результатам относятся, помимо прочего, один или несколько из следующих: снижение пролиферации (или уничтожение) опухолевых или раковых клеток, подавление метастазов опухолевых клеток, сжатие или уменьшение размера опухоли, ремиссия связанной с PD-L1 болезни (например, рака), уменьшение симптомов, возникающих в результате связанной с PD-L1 болезни (например, рака), повышение качества жизни страдающих от связанной с PD-L1 болезни (например, рака), уменьшение дозы других медикаментов, требуемых для лечения

связанной з PD-L1 болезни (например, рака), задержка прогрессирования связанной з PD-L1 болезни (например, рака), излечение от связанной з PD-L1 болезни (например, рака) и/или продление выживаемости пациентов, страдающих от связанной з PD-L1 болезни (например, рака).

5 "Улучшение" означает уменьшение или улучшение одного или нескольких симптомов по сравнению с отсутствием введения антитела PD-L1. "Улучшение" также включает сокращение или уменьшение длительности наличия симптома.

В контексте данной заявки "эффективная доза" или "эффективное количество" медикамента, соединения или фармацевтической композиции означает количество, достаточное для достижения любого одного или нескольких благоприятных или
10 желаемых результатов. Для профилактического применения к желаемым результатам относятся устранение или уменьшения риска, уменьшение тяжести или задержка начала болезни, включая биохимические, гистологические и/или поведенческие симптомы болезни, ее осложнения и промежуточные патологические фенотипы, проявляющиеся
15 в процессе развития болезни. Для терапевтического применения к благоприятным или желаемым результатам относятся клинические результаты, такие, как снижение частоты возникновения или ослабление одного или нескольких симптомов различных связанных с PD-L1 болезней или состояний (таких, как, например, запущенная RCC), уменьшение дозы других медикаментов, требуемых для лечения болезни, повышения эффекта других
20 медикаментов и/или задержка прогрессирования связанной с PD-L1 болезни у пациентов. Эффективная доза может быть введена в один или несколько приемов. С точки зрения этого изобретения эффективная доза медикамента, соединения или фармацевтической композиции означает количество, достаточное для осуществления прямого или косвенного профилактического или терапевтического лечения. В среде клиницистов
25 существует понимание того, что эффективная доза медикамента, соединения или фармацевтической композиции может достигаться или не достигаться в сочетании с другим медикаментом, соединением или фармацевтической композицией. Таким образом, "эффективная доза" может рассматриваться в контексте введения одного или нескольких терапевтических средств, и считается, что один агент вводится в эффективном
30 количестве, если в сочетании с одним или несколькими другими агентами может быть достигнут или достигается желаемый результат.

Термин "опухоль" по отношению к субъекту, у которого диагностировано или предполагается наличие рака, означает злокачественное или потенциально злокачественное новообразование или тканевую массу любого размера и охватывает
35 первичные опухоли и вторичные новообразования. Солидная опухоль означает аномальный рост или массу опухоли, которая обычно не содержит кист или участков жидкости. Различные типы солидных опухолей называют по типу клеток, которые их образуют. Примерами солидных опухолей могут быть саркомы, карциномы и лимфомы. Лейкозы (рак крови), как правило, не образуют солидных опухолей (Национальный
40 институт рака, Словарь онкологических терминов).

"Опухолевая масса", также называемая "опухолевой нагрузкой", означает общее количество опухолевого материала, распределенного по организму. Опухолевая масса означает общее количество раковых клеток или общий размер опухоли(ей) по всему организму, включая лимфатические узлы и костный мозг. Опухолевую массу определяют
45 различными способами, известными специалистам в данной области, например, путем измерения размеров опухоли(ей) после удаления из организма субъекта, например, с использованием кронциркуля, или во время ее пребывания в организме с применением технологий визуализации, например, ультразвука, остеосцинтиграфии, компьютерной

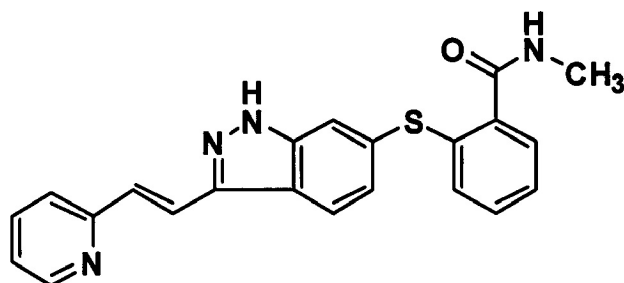
томографии (СТ) или магнитно-резонансной томографии (MRI).

Термин "размер опухоли" означает общий размер опухоли, который может измеряться как длина и ширина опухоли. Размер опухоли может быть определен разными способами, известными специалистам в данной области, например, путем измерения размеров опухоли(ей) после удаления из организма субъекта, например, с использованием кронциркуля, или во время ее пребывания в организме с применением технологий визуализации, например, остеосцинтиграфии, ультразвука, СТ или MRI.

Термины "вариабельные участки" или "V-область" в контексте данного описания означают отрезок цепей IgG, которые являются вариабельными в последовательности между различными антителами. Он простирается до остатка 109 в легкой цепи и 113 в тяжелой цепи согласно Kabat.

Термин "ингибитор VEGFR" означает низкомолекулярный ингибитор рецептора фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) или моноклональное антитело против фактора роста эндотелия сосудов (VEGF). В варианте осуществления "ингибитор VEGFR" означает низкомолекулярный ингибитор рецептора фактора роста эндотелия сосудов (VEGF). Конкретными ингибиторами VEGFR, применимыми в качестве ингибитора VEGFR в связи со способами лечения, медикаментами и применением согласно настоящему изобретению, являются акситиниб, сунитиниб, сорафениб, тивозаниб и бевацизумаб. В варианте осуществления конкретными ингибиторами VEGFR, применимыми в качестве ингибитора VEGFR в связи со способами лечения, медикаментами и применением согласно настоящему изобретению, являются акситиниб, сунитиниб, сорафениб и тивозаниб.

В варианте осуществления способа лечения, медикаментов и применения настоящего изобретения ингибитором VEGFR является соединение N-метил-2-[3-((E)-2-пиридин-2-ил-винил)-1H-индазол-6-илсульфанил]-бензамид или 6-[2-(метилкарбамоил)фенилсульфанил]-3-E-[2-(пиридин-2-ил)этинил]индазол следующей структуры:



которое известно как акситиниб или AG-013736.

Акситиниб является эффективным и селективным ингибитором рецепторов 1, 2 и 3 фактора роста эндотелия сосудов (VEGF). Эти рецепторы задействованы в патологическом ангиогенезе, росте опухоли и метастатическом прогрессировании рака. Было продемонстрировано, что акситиниб эффективно подавляет опосредованные VEGF пролиферацию и выживаемость эндотелиальных клеток (Hu-Lowe, D.D., et al., Clin Pak Res 14: 7272-7283 (2008); Solowiej, S., et al., Biochemistry 48: 7019 - 31 (2009)). В настоящее время ведутся или уже проведены клинические испытания для изучения применения акситиниба для лечения различных видов рака, включая рак печени, меланому, мезотелиому, немелкоклеточный рак легкого, рак предстательной железы, почечноклеточная карцинома, саркомы мягких тканей и солидные опухоли. Inlyta® (акситиниб) утвержден в США, Европе, Японии и в других юрисдикциях для лечения почечноклеточной карциномы.

Акситиниб, а также его фармацевтически приемлемые соли описываются в Патент США №6,534,524. Способы получения акситиниба описываются в Патентах США

№№6,884,890 и 7,232,910, в Публикациях США №№2006-0091067 и 2007-0203196 и в Международной публикации № WO 2006/048745. Дозированные формы акситиниба описываются в Публикации США №2004-0224988. Полиморфные формы и фармацевтические композиции акситиниба также описываются в Публикациях США №№2006-0094763, 2008-0274192 и 2010-0179329 и Международной публикации № WO 2013/046133. Перечисленные выше патенты и патентные публикации включены в данное описание путем ссылки.

Упоминание акситиниба также охватывает и его соли, если не указано иного. Акситиниб по своей природе является основным и способен образовывать самые разнообразные соли с различными неорганическими и органическими кислотами. Термин "соль (соли)" в контексте данного описания означает кислые соли, образуемые с неорганическими и/или органическими кислотами. Фармацевтически приемлемые соли акситиниба могут образовываться, например, путем реакции акситиниба с определенным количеством кислоты, таким, как эквивалентное количество, например, в среде, в которой соль осаждается, или в водной среде с последующей лиофилизацией.

К типичным кислотно-аддитивным солям соединения Формулы I относятся ацетаты, аскорбаты, бензоаты, бензолсульфонаты, бисульфаты, бораты, бутираты, цитраты, камфораты, камфорсульфонаты, фумараты, гидрохлориды, гидробромиды, гидройодиды, лактаты, малеаты, метансульфонаты, нафталинсульфонаты, нитраты, оксалаты, фосфаты, пропионаты, салицилаты, сукцинаты, сульфаты, тартраты, тиоцианаты, толуолсульфонаты (также известные как тозилаты) и т.п. Кроме того, кислоты, которые обычно считаются подходящими для образования фармацевтически применимых солей из основных фармацевтических соединений, обсуждаются, например, в публикациях S. Berge et al, *Journal of Pharmaceutical Sciences* (1977) 66(1) 1-19; P. Gould, *International J. of Pharmaceutics* (1986) 33 201-217; Anderson et al, *The Practice of Medicinal Chemistry* (1996), Academic Press, New York; и *The Orange Book* (Food & Drug Administration, Washington, D.C. на веб-сайте). Эти источники включены в данное описание путем ссылки на них.

Предполагается, что все эти кислотные соли являются фармацевтически приемлемыми солями применительно к акситинибу в контексте настоящего изобретения, и все кислотные соли рассматриваются как эквивалентные трем формам соответствующего соединения с точки зрения изобретения.

Также предполагается применение пролекарств акситиниба в связи со способами, медикаментами и применением согласно настоящему изобретению. Термин "пролекарство" в контексте данного описания означает соединение, являющееся прекурсором лекарственного средства, который при введении субъекту подвергается химическому преобразованию под действием метаболических или химических процессов для образования акситиниба или его соли. Пролекарства обсуждаются в публикациях T. Higuchi and V. Stella, *Prodrugs as Novel Delivery Systems* (1987) 14 of the A.C.S. Symposium Series, и *Bioreversible Carriers in Drug Design*, (1987) Edward B. Roche, ed., American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, обе из которых включены в данное описание путем ссылки на них.

Термин "антитело против 4-1BB" в контексте данного описания означает антитело, определяемое авторами, которое способно связываться с рецептором 4-1BB человека.

Термины "4-1BB" и "рецептор 4-1BB" в данной заявке применяются взаимозаменяемо и относятся к любой форме рецептора 4-1BB, а также его вариантам, изоформам и видовым гомологам, которые сохраняют по меньшей мере часть активности рецептора 4-1BB. Соответственно, связующая молекула, определенная и описанная авторами,

также может связываться с 4-1BB из отличного от человека вида. В других случаях связывающая молекула может быть полностью специфичной к человеческому 4-1BB и может не демонстрировать видов или других типов перекрестной реактивности. Если не указано иного, например, путем конкретной ссылки на человеческий 4-1BB, 4-1BB охватывает природные последовательности 4-1BB всех видов млекопитающих, например, человека, собаки, кошки, лошади и крупного рогатого скота. Типичным человеческим 4-1BB является белок из 255 аминокислот (номер доступа NM_001561;NP_001552).

4-1BB включает сигнальную последовательность (аминокислотные остатки 1-17), за которой следует внеклеточный домен (169 аминокислот), трансмембранную область (27 аминокислот) и внутриклеточный домен (42 аминокислоты) (Cheuk ATC et al. 2004 Cancer Gene Therapy 11: 215-226). Рецептор экспрессируется на поверхности клетки в мономерной и димерной формах и, вероятно, тримеризуется с лигандом 4-1BB к сигналу.

"Агонист 4-1BB" в контексте данного описания означает любое химическое соединение или биологическую молекулу, как определяется авторами, которая при связывании с 4-1BB (1) стимулирует или активирует 4-1BB, (2) усиливает, повышает, способствует, вызывает или продлевает активность, функцию или присутствие 4-1BB или (3) усиливает, повышает, способствует или вызывает экспрессию 4-1BB. К агонистам 4-1BB, применяемым в связи с любыми способами лечения, медикаментами и применением согласно настоящему изобретению, относятся моноклональное антитело (mAb) или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывается с 4-1BB. Альтернативными названиями или синонимами 4-1BB являются CD137 и TNFRSF9. В связи с любыми способами лечения, медикаментами и применением настоящего изобретения, которые касаются лечения человека, агонисты 4-1BB повышают опосредованный 4-1BB ответ. В некоторых вариантах осуществления способа лечения, медикаментов и применения согласно настоящему изобретению агонисты 4-1BB заметно усиливают цитотоксический Т-клеточный иммунный ответ, который в результате обеспечивает противоопухолевую активность в некоторых моделях.

Человеческий 4-1BB включает сигнальную последовательность (аминокислотные остатки 1-17), за которой следует внеклеточный домен (169 аминокислот), трансмембранная область (27 аминокислот) и внутриклеточный домен (42 аминокислот) (Cheuk ATC et al. 2004 Cancer Gene Therapy 11: 215-226). Рецептор экспрессируется на поверхности клетки в мономерной и димерной формах и, вероятно, тримеризуется с лигандом 4-1BB к сигналу.

Примеры mAb, которые связываются с человеческим 4-1BB и могут применяться в связи со способами лечения, медикаментами и применением согласно настоящему изобретению, описываются в документах US 8,337,850 и US 20130078240. В некоторых вариантах осуществления антитело против 4-1BB, применяемое в связи с описываемыми авторами способами лечения, медикаментами и применением, представляет собой полностью гуманизированное агонистическое моноклональное антитело IgG2, включающее вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, включающие аминокислотные последовательности, показанные в SEQ ID NO: 18 и SEQ ID NO: 19, соответственно.

Ниже в Таблице 3А представлены примеры последовательностей антител против 4-1BB для применения в связи со способами лечения, медикаментами и применением согласно настоящему изобретению.

**Таблица 3А. ТИПИЧНЫЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ
МОНОКЛОНАЛЬНОГО АНТИТЕЛА ПРОТИВ 4-1ВВ ЧЕЛОВЕКА**

CDRH1	STYWIS (SEQ ID NO:12)
CDRH2	KIYPGDSYTNYSFSFQG (SEQ ID NO:13)
CDRH3	RGYGIFYD (SEQ ID NO:14)
CDRL1	SGDNIGDQYAH (SEQ ID NO:15)
CDRL2	QDKNRPS (SEQ ID NO:16)
CDRL3	ATYTGFGSLAV (SEQ ID NO:17)
VR тяжелой цепи	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQMPGKGLEW MGKIYPGDSYTNYSFSFQGQVTISADKSIISTAIPLQWSSLKASDTAMY YCARGYGIFYDWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 18)
VR легкой цепи	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNIGDQYAHWYQQKPGQSPVLVI YQDKNRPSGIPERFSGNSNGNTATLTISGTQAMDEADYYCATYTGFG SLAVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 19)
Тяжелая цепь	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQMPGKGLEW MGKIYPGDSYTNYSFSFQGQVTISADKSIISTAIPLQWSSLKASDTAMY YCARGYGIFYDWGQGTTLTVSSastkgpsvflapcsrstsestaal gclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvp ssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktkverkcceppcpappvagpsv flfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhna ktpreeqfnstfrvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapie tisktkgqprepvytlppsreemtknqvsltclvkgyfypsdiavew esngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqggnvfscsvm healhnhytqkslslspgk (SEQ ID NO: 20)
Легкая цепь	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNIGDQYAHWYQQKPGQSPVLVI YQDKNRPSGIPERFSGNSNGNTATLTISGTQAMDEADYYCATYTGFG SLAVFGGGTKLTVLgqpkaapsvtlfppsseelqankatlvcclisdf ypgavtvawkadsspvkagvettpskqsnkyaassilsltpewk shrsyscqvtthegstvektvaptcs (SEQ ID NO: 21)

Термин "антитело против М-CSF" в контексте данного описания означает антитело, как определяется авторами, способное связываться с рецептором М-CSF человека.

Термины "М-CSF" и "рецептор М-CSF" в данной заявке применяются взаимозаменяемо и относятся к любой форме рецептора М-CSF, а также его вариантов, изоформ и видовых гомологов, которые сохраняют по меньшей мере часть активности рецептора М-CSF. Соответственно, связующая молекула, как определяется и раскрывается авторами, также может связываться с М-CSF из отличного от человека вида. В других случаях связующая молекула может быть полностью специфичной к человеческому М-CSF и может не демонстрировать видов или других типов перекрестной реактивности. Если не указано иного, например, путем конкретной ссылки на человеческий М-CSF, М-CSF охватывает природные последовательности М-CSF всех видов млекопитающих, например, человека, собаки, кошки, лошади и крупного рогатого скота. Примером человеческого М-CSF может быть белок из 554 аминокислот (номер доступа UniProt P09603).

"Антагонистическое антитело против М-CSF" в контексте данного описания означает любое антитело, как определяется авторами, которое при связывании с М-CSF ингибирует связывание М-CSF с рецептором c-fms и блокирует или предотвращает активацию c-fms. К антагонистам М-CSF, применяемым в связи с любыми способами лечения, медикаментами и применением согласно настоящему изобретению, относится моноклональное антитело (mAb), которое специфически связывается с М-CSF.

Примеры mAb, которые связываются с человеческим М-CSF и применяются в связи

со способами лечения, медикаментами и применением согласно настоящему изобретению, описываются, например, в Патенте США №7,326,414, Публикации патентной заявки PCT №WO2014167088 и Публикации патентной заявки США №20140242071. В некоторых вариантах осуществления антитело против M-CSF, применяемое в связи с раскрываемыми авторами способами лечения, медикаментами и применением, является полностью человеческое Антагонистическое моноклональное антитело IgG2, включающее вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, включающие аминокислотные последовательности, показанные в SEQ ID NO: 30 и SEQ ID NO: 31, соответственно.

Ниже в Таблице 3В представлены примеры последовательностей антител против M-CSF для применения в связи со способами лечения, медикаментами и применением согласно настоящему изобретению.

**Таблица 3В. ТИПИЧНЫЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ
МОНОКЛОНАЛЬНОГО АНТИТЕЛА ПРОТИВ M-CSF ЧЕЛОВЕКА**

CDRH1	SFSMT (SEQ ID NO: 24)
CDRH2	YISSRSSTISYADSVKG (SEQ ID NO: 25)
CDRH3	DPLLAGATFFDY (SEQ ID NO: 26)
CDRL1	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 27)
CDRL2	GASSRAT (SEQ ID NO: 28)
CDRL3	QQYGSSPLT (SEQ ID NO: 29)

VR тяжелой цепи	MELGLCWVFLVAILEGVQCEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFSMTWVRQAPGKGLEWVSYISSRSSTISYADSVKGRFTISRDNANKSLIILQMNSLRDEDTAVYYCARDPLLAGATFFDYWGQGTILVTVSSA (SEQ ID NO: 30)
VR легкой цепи	METPAQLLFLLLLLWLPDITTEFVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSIILAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 31)
Тяжелая цепь	MELGLCWVFLVAILEGVQCEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFSMTWVRQAPGKGLEWVSYISSRSSTISYADSVKGRFTISRDNANKSLIILQMNSLRDEDTAVYYCARDPLLAGATFFDYWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRCCKVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTIVHVDWLNQKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 22)
Легкая цепь	METPAQLLFLLLLLWLPDITTEFVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSIILAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 23)

Термин "Антитело против OX40" в контексте данного описания означает антитело, как определяется авторами, способное связываться с рецептором OX40 человека.

Термины "OX40" и "рецептор OX40" в данной заявке применяются взаимозаменяемо и относятся к любой форме рецептора OX40, а также его вариантов, изоформ и видовых

гомологов, которые сохраняют по меньшей мере часть активности рецептора ОХ40. Соответственно, связующая молекула, как определяется и раскрывается авторами также может связываться с ОХ40 из отличного от человека вида. В других случаях связующая молекула может быть полностью специфичной к человеческому ОХ40 и может не демонстрировать видов или других типов перекрестной реактивности. Если не указано иного, например, путем конкретной ссылки на человеческий ОХ40, ОХ40 охватывает природные последовательности ОХ40 всех видов млекопитающих, например, человека, собаки, кошки, лошади и крупного рогатого скота. Примером человеческого ОХ40 может быть белок из 277 аминокислот (номер доступа UniProt P43489).

"Агонистическое антитело против ОХ40" в контексте данного описания означает любое антитело, как определяется авторами, которое при связывании с ОХ40 (1) стимулирует или активирует ОХ40, (2) усиливает, повышает, способствует, вызывает или продлевает активность, функцию или присутствие ОХ40 или (3) усиливает, повышает, способствует или вызывает экспрессию ОХ40. К агонистам ОХ40, применяемые в связи с любыми способами лечения, медикаментами и применением согласно настоящему изобретению, относится моноклональное антитело (mAb), которое специфически связывается с ОХ40.

Примеры mAb, которые связываются с человеческим ОХ40 и применяются в связи со способами лечения, медикаментами и применением согласно настоящему изобретению, описываются, например, в Патенте США №7,960,515, Публикациях патентных заявок РСТ №№ WO 2013028231 и WO 2013/119202 и Публикации патентной заявки США №20150190506. В некоторых вариантах осуществления антитело против ОХ40, применяемое в связи с раскрываемыми авторами способами лечения, медикаментами и применением, является полностью человеческое агонистическое моноклональное антитело, включающее вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, включающие аминокислотные последовательности, показанные в SEQ ID NO: 38 и SEQ ID NO: 39, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело против ОХ40 является полностью человеческим антителом IgG2 или IgG1.

Ниже в Таблице 3С представлены примеры последовательностей антител против ОХ40 для применения в связи со способами лечения, медикаментами и применением согласно настоящему изобретению.

Таблица 3С. ТИПИЧНЫЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

МОНОКЛОНАЛЬНОГО АНТИТЕЛА ПРОТИВ ОХ40 ЧЕЛОВЕКА

CDRH1	SYSMN (SEQ ID NO: 32)
CDRH2	YISSSSSTIDYADSVKG (SEQ ID NO: 33)
CDRH3	ESGWYLFY (SEQ ID NO: 34)
CDRL1	RASQGISSWLA (SEQ ID NO: 35)
CDRL2	AASSLQS (SEQ ID NO: 36)
CDRL3	QQYNSYPPT (SEQ ID NO: 37)
VR тяжелой цепи	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEW VSYISSSSSTIDYADSVKGRFTISRDNKNSLIQLQMNSLRDEDTAVY YCARESGWILFDYWGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO: 38)

VR легкой цепи	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSY PPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 39)
Тяжелая цепь	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEW VSYISSSSSSTIDYADSVKGRFTISRDNAKNSLIQLQMNSLRDEDTAVY YCARESGWILFDYWGGTGLVTVSSastkgpsvfplapcsrcstsesta algclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfpavlgssglyslssvvt vpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktkverkccecpccpappvaggp svflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevh naktkpreeqfnstfrvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkgplapi ektisktkgqprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgyfypsdiav ewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscs vmhealhnhytqkslsispkg (SEQ ID NO: 40)
Легкая цепь	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSY PPTFGGGTKVEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcclnnfyp reakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdsksdstyslsstltliskadyek hkvyacevthqglsspvtksfnrgec (SEQ ID NO: 41)

Антиген "CD20" представляет собой ~35 кДа негликозилированный фосфопротеин, находящийся на поверхности более 90% В-клеток периферической крови или лимфоидных органов. CD20 экспрессируется на ранней стадии развития пре-В-клеток и остается до дифференциации клеток плазмы. CD20 присутствует в нормальных В-клетках, а также в злокачественных В-клетках. Среди других названий CD20b литературе встречаются "рестриктивный в В-лимфоцитах антиген" и "Bp35". Антиген CD20 описывается, например, в публикации Clark et al. PNAS (USA) 82: 1766 (1985).

Если нет иных определений, все применяемые авторами технические и научные термины имеют значения, которые являются общепринятыми среди специалистов в области, к которой относится это изобретение. В случае противоречий преимущественную силу имеет настоящее описание, включая определения. Во всем тексте этого описания и в формуле изобретения слово "включать" или его варианты, такие, как "включает" или "включая", следует понимать как предполагающие включение целого числа или группы целых чисел, но не исключение любого другого целого числа или группы целых чисел. Если контекстом не требуется иного, термины в единственном числе включают и множественное число, а термины во множественном числе включают и единственное число.

Авторами описываются типичные способы и материалы, хотя способы и материалы, подобные или эквивалентные описанным авторами, также могут применяться в практическом осуществлении или испытании изобретения. Материалы, способы и примеры являются лишь иллюстративными, но не ограничивающими.

II. СПОСОБЫ, ПРИМЕНЕНИЕ И МЕДИКАМЕНТЫ

В одном аспекте изобретение обеспечивает способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1 и ингибитор VEGF.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1 и антитело против 4-1BB.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1 и антитело против M-CSF.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1 и антитело против OX40.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1, антитело против 4-1BB и антитело против M-CSF.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1, антитело против 4-1BB и антитело против OX40.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1, антитело против 4-1BB и антагонист CD20. В некоторых вариантах осуществления антагонистом PD-L1 является авелумаб, антителом против 4-1BB является PF-05082566, и антагонистом CD20 является ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления способ включает 28-дневный цикл, причем ритуксимаб вводят в 1-й день каждого 28-дневного цикла в дозе 375 мг/м^2 , PF-05082566 вводят в 1-й или 2-й день в фиксированной дозе 100 мг, и авелумаб вводят в дозе 10 мг/кг на 2-й день и 15-й или 16-й день каждого 28-дневного цикла. В некоторых вариантах осуществления на 2-й день авелумаб вводят по меньшей мере через 3 часа после введения PF-05082566. В некоторых вариантах осуществления на 2-й день авелумаб вводят приблизительно через 30 минут после введения PF-05082566. В некоторых вариантах осуществления на 2-й день авелумаб вводят приблизительно через 60 минут после введения PF-05082566.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1, антитело против 4-1BB и азациитидин. В некоторых вариантах осуществления антагонистом PD-L1 является авелумаб, и антителом против 4-1BB является PF-05082566. В некоторых вариантах осуществления способ включает 28-дневный цикл, причем азациитидин вводят подкожно в дневной дозе 75 мг/м^2 последовательно с 1-го по 7-й день каждого 28-дневного цикла, PF-05082566 вводят внутривенно в фиксированной дозе 100 мг в 1-й или 2-й день, и авелумаб вводят в дозе 10 мг/кг на 2-й день и 15-й или 16-й день каждого 28-дневного цикла. В некоторых вариантах осуществления на 2-й день авелумаб вводят по меньшей мере через 3 часа после введения PF-05082566. В некоторых вариантах осуществления на 2-й день авелумаб вводят приблизительно через 30 минут после введения PF-05082566. В некоторых вариантах осуществления на 2-й день авелумаб вводят приблизительно через 60 минут после введения PF-05082566. В некоторых вариантах осуществления на 2-й день авелумаб вводят по меньшей мере через 3 часа после введения PF-05082566. В некоторых вариантах осуществления на 2-й день авелумаб вводят приблизительно через 30 минут после введения PF-05082566. В некоторых вариантах осуществления на 2-й день авелумаб вводят приблизительно через 60 минут после введения PF-05082566. В некоторых вариантах осуществления азациитидин вводят по меньшей мере за 3 часа до PF-05082566 при введении дозы в тот же день.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1, бендамустин, и антагонист CD20. В некоторых вариантах осуществления антагонистом PD-L1 является авелумаб, а антагонистом CD20 является ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления способ включает

28-дневный цикл, причем ритуксимаб вводят в 1-й день каждого 28-дневного цикла в дозе 375 мг/м², бендамустин вводят внутривенно в дозе 90 мг/м² на 2-й день и 3-й день, и авелумаб вводят в дозе 10 мг/кг на 2-й день и 15-й или 16-й день каждого 28-дневного цикла. В некоторых вариантах осуществления способ включает 28-дневный цикл, причем ритуксимаб вводят в 1-й день каждого 28-дневного цикла в дозе 375 мг/м², бендамустин вводят внутривенно в дозе 90 мг/м² в 1-й день и 2-й день, и авелумаб вводят в дозе 10 мг/кг на 2-й день и 15-й или 16-й день каждого 28-дневного цикла. В некоторых вариантах осуществления на 2-й день авелумаб вводят по меньшей мере через 3 часа после введения бендамустина. В некоторых вариантах осуществления на 2-й день авелумаб вводят приблизительно через 30 минут после введения бендамустина. В некоторых вариантах осуществления на 2-й день авелумаб вводят приблизительно через 60 минут после введения бендамустина.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту комбинированного терапевтического средства, включающего антагонист PD-L1 и химиорадиотерапию.

Комбинированная терапия также может включать одно или несколько дополнительных терапевтических средств. Дополнительным терапевтическим средством может быть, например, химиотерапевтическое средство, отличное от ингибитора VEGF, биотерапевтическое средство (включая, помимо прочих, антитела к VEGF, EGFR, Her2/неу, другим рецепторам фактора роста, CD40, CD-40L, CTLA-4 и ICOS), иммуногенный агент (например, ослабленные раковые клетки, опухолевые антигены, антиген-презентирующие клетки, такие, как дендритные клетки, импульсно меченные взятыми из опухоли антигеном или нуклеиновыми кислотами, иммуностимулирующие цитокины (например, IL-2, IFN α 2, GM-CSF), Т-клетки химерного антигенного рецептора (CAR) и клетки, трансфицированные генами, кодирующими иммуностимулирующие цитокины, включая, помимо прочих, GM-CSF).

Примерами химиотерапевтических средств могут быть алкилирующие агенты, такие, как тиотепа и циклофосфамид; алкилсульфонаты, такие, как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие, как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая альтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилентифосфорамид и триметилломеламин; ацетогенины (в частности, буллатацин и буллатацинон); камптотецин (включая синтетический аналог топотекан); бриостатин; каллистатин; CC-1065 (включая его адозелезиновые, карзелезиновые и бизелезиновые синтетические аналоги); криптофицины (в частности, криптофицин 1 и криптофицин 8); доластатин; дуокармицин (включая синтетические аналог, KW-2189 и CB1-TM1); элеутеробин; панкреатистатин; саркодиктин; спонгистатин; азотистые иприты, такие, как хлорамбуцил, хлорнафазин, голофосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлоретамин, гидроклорид оксида мехлоретамина, мелфалан, новембихин, фенэстерин, преднимустин, трофосфамид, урациловый иприт; производные нитрозомочевины, такие, как кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин и ранимустин; антибиотики, такие, как ендиинозные антибиотики (например, калихемицин, в частности, калихемицин гамма II и калихемицин фи I1, см., например, Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994); динемидин, включая динемидин А; бисфосфонаты, такие, как хлоронат; эсперамицин; а также хромофор неокарциностантин и родственные хромопротеинозные ендиенозные антибиотические хромофоры), аклациномизины, актиномицин, антрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, карабицин, карминомицин, акрцинофилин, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин,

деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин (включая морфолинодоксорубицин, цианоморфолинодоксорубицин, 2-пирролинодоксорубицин и дезоксидоксорубицин), эпирубицин, эзорубицин, идарубицин, марцеломицин, митомицины, такие, как митомицин С, микофеноловая кислота, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, потфиروмицин, пурамицин, квеламицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, теберцидин, убенимекс, зиностатин, зорубицин; антиметаболиты, такие, как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие, как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметрексат; аналоги пурина, такие, как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидина, такие, как анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин; андрогены, такие, как калустерон, пропионат дромостанолон, эпитиостанол, мапистиостан, тестолактон; антиадреналовые средства, такие как аминоклутетимид, митотан, трилостан; компенсаторы фолиевой кислоты, такие как фолиновую кислоту; ацеглатон; альдофосфамид гликозид; аминоклевулиновую кислоту; енилурацил; амсакрин; бестрабуцил; бизантрен; эдатраксат; дефофамин; демеколицин; диазиквон; эльфорнитин; эллиптиум ацетат; эпотилон; этоглуцид; нитрат галлия; гидроксимочевину; лентинан; лонидаинин; майтанзиноиды, такие как майтаназин и анзамитоцины; митогуазон; митоксантрон; мопиданмол; нитраерин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; лозоксантрон; подофилиновую кислоту; 2-этилгидразид; прокарбазин; разоксан; ризоксин; сизофиран; спирогерманий; тенуазоновая кислота; триазиквон; 2, 2', 2''-трихлортриэтиламин; трихотецены (особенно токсин Т-2, верракурин А, роридин А и ангуидин); уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид ("Ага-С"); циклофосфамид; тиотепа; таксоиды, например, паклитаксел и доцетаксел; хлоранбуцил; гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги платины, такие как карбоплатин; винбластин; платина; этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксантрон; винкристин; винорелбин; новантрон; тенипозид; эдатрексат; дауномицин; аминоклутетин; кселода; ибандронат; СРТ-11; ингибитор топоизомеразы RFS 2000; дифторметилорнитин (DMFO); ретиноиды, такие как ретиноевая кислота; капецитабин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из указанного выше. Также включаются антигормональные агенты, регулирующие или подавляющие воздействие гормонов на опухоли, такие, как антиэстрогены и селективные модуляторы рецепторов эстрогена (SERM), включая, например, тамоксифен, ралоксифен, дролоксифен, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон и торемифен (Fareston); ингибиторы ароматазы, ингибирующие фермент ароматазу, регулирующий образование эстрогенов в надпочечниках, такие, как, например, 4(5)-имидазолы, аминоклутетимид, мегестрол ацетат, экземестан, форместан, фадрозол, ворозол, летрозол и анастрозол; и антиандрогены, такие, как флутамид, нилутамид, бикалутамид, лейпролид и гозерелин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из указанного выше.

Каждое терапевтическое средство при комбинированной терапии согласно изобретению вводят отдельно или в составе медикамента (также называемом фармацевтической композицией), который включает терапевтическое средство и один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, вспомогательных веществ и разбавителей, в соответствии со стандартами фармацевтической практики.

Каждое терапевтическое средство при комбинированной терапии согласно изобретению вводят одновременно (т.е., в составе одного медикамента), параллельно

(т.е., в составе разных медикаментов, вводимых один за другим в любом порядке) или последовательно в любом порядке. Последовательное введение особенно целесообразно, когда терапевтические средства в комбинированной терапии предусмотрены в разных лекарственных формах (одно средство в форме таблетки или капсулы, а другое средство - в форме стерильного раствора) и/или вводят в разных режимах дозирования, например, химиотерапевтическое средство, которое вводят по меньшей мере раз в день, и а биотерапевтическое средство, которое вводят реже, например, раз в неделю, раз в две недели или раз в три недели.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор VEGFR или антитело против 4-1BB вводят перед введением антагониста PD-L1, тогда как в других вариантах осуществления ингибитор VEGFR или антитело против 4-1BB вводят после введения антагониста PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно из терапевтических средств при комбинированной терапии вводят с применением одного режима дозирования (доза, частота и длительность лечения), который обычно применяют в случаях, когда агент применяется в качестве средства монотерапии для лечения одного вида рака. В других вариантах осуществления пациент получает меньшее количество по меньшей мере одного из терапевтических средств при комбинированной терапии по сравнению с применением агента в качестве средства монотерапии, например, в меньших дозах, с меньшей частотой и/или с меньшей длительностью лечения.

Каждое низкомолекулярное терапевтическое средство в комбинированной терапии согласно изобретению может вводиться перорально или парентерально, включая внутривенный, внутримышечный, внутривнутрибрюшинный, подкожный, ректальный, местный и чрескожный пути введения.

Комбинированная терапия согласно изобретению может применяться до или после хирургической операции по удалению опухоли и может применяться до, во время и после лучевой терапии.

В некоторых вариантах осуществления комбинированную терапию согласно изобретению применяют для пациента, который ранее не подвергался лечению биотерапевтическим или химиотерапевтическим средством. В других вариантах осуществления комбинированную терапию применяют для пациента, у которого не удалось достичь устойчивого ответа после предшествующей терапии с применением биотерапевтического или химиотерапевтического средства, т.е., уже подвергавшегося лечению.

Комбинированную терапию согласно изобретению, как правило, применяют для лечения опухоли, которая достаточно велика для обнаружения путем пальпации или с применением технологий визуализации, хорошо известных специалистам в данной области, таких, как МРТ, ультразвук или компьютерная томография. В некоторых вариантах осуществления комбинированную терапию согласно изобретению применяют для лечения опухоли на поздней стадии, которая имеет размер по меньшей мере приблизительно 200 мм³, 300 мм³, 400 мм³, 500 мм³, 750 мм³ или до 1000 мм³.

В некоторых вариантах осуществления комбинированную терапию согласно изобретению применяют для человека, страдающего от рака, который обнаруживает положительный результат теста на экспрессию PD-L1. В некоторых вариантах осуществления экспрессия PD-L1 может быть обнаружена с применением диагностического антитела против PD-L1 человека или его антигенсвязывающего фрагмента в иммуногистохимическом анализе на зафиксированном формалином или замороженном срезе образца опухолевой ткани, взятого из организма пациента. Как

правило, врач пациента назначает диагностическое обследование для определения экспрессии PD-L1 в образце опухолевой ткани, взятой из организма пациента перед началом лечения антагонистом PD-L1 и ингибитором VEGFR, но при этом предусматривается, что врач может назначить первое или последующие диагностические обследования в любое время после начала лечения, например, после завершения цикла лечения.

Выбор режима дозирования (также называемого режимом введения) для комбинированной терапии согласно изобретению зависит от нескольких факторов, включая скорость циркуляции препарата в сыворотке или ткани, уровень симптомов, иммуногенность препарата и доступность являющихся объектом воздействия клеток, ткани или органа у субъекта, подвергаемого лечению. Предпочтительно режим дозирования обеспечивает максимальное количество каждого терапевтического средства, доставляемого в организм пациента, с учетом приемлемого уровня побочных эффектов. Соответственно, количество дозы и частота дозирования каждого биотерапевтического и химиотерапевтического средства в комбинации частично зависят от конкретного терапевтического средства, тяжести рака, поддающегося лечению, и характеристик пациента. Рекомендации по выбору соответствующих доз антител и малых молекул можно найти в литературе. См., например, Wawrzynczak (1996) *Antibody Therapy*, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK; Kresina (ed.) (1991) *Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis*, Marcel Dekker, New York, NY; Bach (ed.) (1993) *Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases*, Marcel Dekker, New York, NY; Baert et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 348: 601-608; Milgrom et al. (1999) *New Engl. J. Med.* 341: 1966-1973; Slamon et al. (2001) *New Engl. J. Med.* 344: 783-792; Beniaminovitz et al. (2000) *New Engl. J. Med.* 342: 613-619; Ghosh et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 348: 24-32; Lipsky et al. (2000) *New Engl. J. Med.* 343: 1594-1602; Physicians' Desk Reference 2003 (Physicians' Desk Reference, 57th Ed); Medical Economics Company; ISBN: 1563634457; 57th edition (November 2002). Подходящий режим дозирования может быть определен клиническим врачом, например, с использованием параметров или факторов, известных или предполагаемых специалистами в данной области в качестве влияющих на лечение согласно имеющимся данным или прогнозам, и зависит, например, от истории болезни пациента (например, предшествующей терапии), типа и стадии рака, поддающегося лечению, и биомаркеров ответа на одно или несколько терапевтических средств в комбинированной терапии.

Биотерапевтические средства в комбинированной терапии согласно изобретению вводят путем непрерывной инфузии или дозами с интервалами, например, раз в день, через день, три раза в неделю или раз в неделю, две недели, три недели, раз в месяц, в два месяца и т.д. Общая недельная доза, как правило, составляет по меньшей мере 0,05 мкг/кг, 0,2 мкг/кг, 0,5 мкг/кг, 1 мкг/кг, 10 мкг/кг, 100 мкг/кг, 0,2 мг/кг, 1,0 мг/кг, 2,0 мг/кг, 10 мг/кг, 25 мг/кг, 50 мг/кг массы тела или более. См., например, Yang et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 349: 427-434; Herold et al. (2002) *New Engl. J. Med.* 346: 1692-1698; Liu et al. (1999) *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 67: 451-456; Portielji et al. (20003) *Cancer Immunol. Immunother.* 52: 133-144.

В некоторых вариантах осуществления, в которых применяется mAb против PD-L1 человека в качестве антагониста PD-L1 в комбинированной терапии, режим дозирования включает введение mAb против PD-L1 человека в дозе приблизительно 1, 2, 3, 5 или 10 мг/кг с интервалами приблизительно 14 дней (± 2 дня) или приблизительно 21 день (± 2 дня) или приблизительно 30 дней (± 2 дня) в течение всего курса лечения.

В других вариантах осуществления, в которых применяется mAb против PD-L1 человека в качестве антагониста PD-L1 в комбинированной терапии, режим дозирования

включает введение mAb против PD-L1 человека в дозе от приблизительно 0,005 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг, с индивидуальным повышением дозы для пациента. В других вариантах осуществления с повышением дозы интервал между дозами постепенно сокращают, например, от приблизительно 30 дней (± 2 дня) между первой и второй дозами до приблизительно 14 дней (± 2 дня) между второй и третьей дозами. В некоторых вариантах осуществления интервал между дозами составляет приблизительно 14 дней (± 2 дня) для доз, следующих за второй дозой.

В некоторых вариантах осуществления субъект получает внутривенную (IV) инфузию медикамента, включающего любой из описываемых авторами антагонистов PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления антагонистом PD-L1 в комбинированной терапии является авелумаб, который вводят внутривенно в дозе, выбранной из группы, к которой относятся: приблизительно 1 мг/кг Q2W (Q2W = одна доза каждые две недели), приблизительно 2 мг/кг Q2W, приблизительно 3 мг/кг Q2W, приблизительно 5 мг/кг Q2W, приблизительно 10 мг Q2W, приблизительно 1 мг/кг Q3W (Q3W = одна доза каждые три недели), приблизительно 2 мг/кг Q3W, приблизительно 3 мг/кг Q3W, приблизительно 5 мг/кг Q3W и приблизительно 10 мг Q3W.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антагонистом PD-L1 в комбинированной терапии является авелумаб, который вводят в составе жидкого медикамента в дозе, выбранной из группы, к которой относятся приблизительно 1 мг/кг Q2W, приблизительно 2 мг/кг Q2W, приблизительно 3 мг/кг Q2W, приблизительно 5 мг/кг Q2W, приблизительно 10 мг Q2W, приблизительно 1 мг/кг Q3W, приблизительно 2 мг/кг Q3W, приблизительно 3 мг/кг Q3W, приблизительно 5 мг/кг Q3W и приблизительно 10 мг Q3W.

В некоторых вариантах осуществления цикл лечения начинается с первого дня комбинированного лечения и длится в течение 2 недель. В таких вариантах осуществления комбинированную терапию предпочтительно применяют в течение по меньшей мере 12 недель (6 циклов лечения), более предпочтительно - по меньшей мере 24 недель, еще более предпочтительно - по меньшей мере 2 недель после достижения пациентом CR.

В некоторых вариантах осуществления агонист 4-1BB в комбинированной терапии включает моноклональное антитело против 4-1BB, включающее вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, включающие аминокислотные последовательности, показанные в SEQ ID NO: 18 и SEQ ID NO: 19, соответственно, и вводится в составе жидкого медикамента в дозе, выбранной из группы, к которой относятся 1 мг/кг Q2W, 2 мг/кг Q2W, 3 мг/кг Q2W, 5 мг/кг Q2W, 10 мг Q2W, 1 мг/кг Q3W, 2 мг/кг Q3W, 3 мг/кг Q3W, 5 мг/кг Q3W, и 10 мг Q3W. В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело против 4-1BB вводят как жидкий медикамент, и выбранную дозу медикамента вводят путем внутривенной инфузии в течение периода времени приблизительно 60 минут.

В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело против 4-1BB вводят в начальной дозе приблизительно 0,6 мг/кг Q4W, и авелумаб вводят в начальной дозе 10 мг/кг Q2W, и если начальная комбинация доз не переносится пациентом, то дозу уменьшают до 5 мг/кг Q2W, и/или дозу моноклонального антитела против 4-1BB уменьшают до 0,3 мг/кг Q4W.

В некоторых вариантах осуществления пациента выбирают для лечения с применением комбинированной терапии согласно изобретению, если у пациента была диагностирована запущенная стадия RCC с преимущественно светлоклеточным подтипом, и первичная опухоль была хирургически удалена. В некоторых вариантах

осуществления пациент ранее не подвергался системной терапии от запущенной RCC.

Настоящее изобретение также обеспечивает медикамент, который включает антагонист PD-L1, как описывается выше, и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество. Если антагонист PD-L1 является биотерапевтическим средством, например, mAb, антагонист может продуцироваться в клетках CHO с применением традиционных технологий культивирования клеток и их выделения / очистки.

В некоторых вариантах осуществления медикамент, включающий антитело против PD-L1 в качестве антагониста PD-L1, может обеспечиваться в форме жидкой композиции или приготавливаться путем восстановления влагосодержания лиофилизированного порошка стерильной водой для инъекций перед применением.

Настоящее изобретение также обеспечивает медикамент, включающий акситиниб и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

Описываемые авторами медикаменты, представляющие антитело против PD-L1 и ингибитор VEGFR, могут быть предусмотрены в форме комплекта, включающего первое вместилище и второе вместилище и листок-вкладыш в упаковке. Первое вместилище содержит по меньшей мере одну дозу медикамента, включающего антагонист против PD-L1, второе вместилище содержит по меньшей мере одну дозу медикамента, включающего ингибитор VEGFR, и листок-вкладыш в упаковке или ярлык, который включает инструкции по лечению страдающего от рака пациента с применением медикаментов. Первое и второе вместилища могут быть выполнены в одинаковой или в разных формах (например, флаконы, шприцы и бутылки) и/или из одинакового или разных материалов (например, пластики или стекла). Комплект также может включать другие материалы, которые могут применяться для введения медикаментов, такие, как разбавители, фильтры, пакеты и системы для внутривенного введения, иглы и шприцы. В некоторых вариантах осуществления комплекта антагонист против PD-L1 является антителом против PD-L1, и в инструкциях указывается, что медикаменты предназначены для применения в лечении пациента, страдающего от рака, который обнаруживает положительный результат теста на экспрессию PD-L1 при иммуногистохимическом анализе.

Описываемые авторами медикаменты, содержащие антитела против PD-L1 и против 4-1BB, могут обеспечиваться в форме комплекта, который включает первое вместилище и второе вместилище и листок-вкладыш в упаковке. Первое вместилище содержит по меньшей мере одну дозу медикамента, включающего антагонист против PD-L1, второе вместилище содержит по меньшей мере одну дозу медикамента, включающего антитело против 4-1BB, и листок-вкладыш в упаковке или ярлык, который включает инструкции по лечению страдающего от рака пациента с применением медикаментов. Первое и второе вместилища могут быть выполнены в одинаковой или в разных формах (например, флаконы, шприцы и бутылки) и/или из одинакового или разных материалов (например, пластики или стекла). Комплект также может включать другие материалы, которые могут применяться для введения медикаментов, такие, как разбавители, фильтры, пакеты и системы для внутривенного введения, иглы и шприцы. В некоторых вариантах осуществления комплекта антагонист против PD-L1 является антителом против PD-L1, и в инструкциях указывается, что медикаменты предназначены для применения в лечении пациента, страдающего от рака, который обнаруживает положительный результат теста на экспрессию PD-L1 при иммуногистохимическом анализе.

Описываемые авторами медикаменты, содержащие антитело против PD-L1 и

антагонист CD20, могут обеспечиваться в форме комплекта, который включает первое вместилище и второе вместилище и листок-вкладыш в упаковке. Первое вместилище содержит по меньшей мере одну дозу медикамента, включающего антагонист против PD-L1, второе вместилище содержит по меньшей мере одну дозу медикамента, содержащего антагонист CD20, и листок-вкладыш в упаковке или ярлык, который включает инструкции по лечению страдающего от рака пациента с применением медикаментов. Первое и второе вместилища могут быть выполнены в одинаковой или в разных формах (например, флаконы, шприцы и бутылки) и/или из одинакового или разных материалов (например, пластики или стекла). Комплект также может включать другие материалы, которые могут применяться для введения медикаментов, такие, как разбавители, фильтры, пакеты и системы для внутривенного введения, иглы и шприцы. В некоторых вариантах осуществления комплекта антагонист против PD-L1 является антителом против PD-L1, и в инструкциях указывается, что медикаменты предназначены для применения в лечении пациента, страдающего от рака, который обнаруживает положительный результат теста на экспрессию PD-L1 при иммуногистохимическом анализе.

Эти и другие аспекты изобретения, включая перечисленные ниже примеры конкретных вариантов осуществления, станут очевидными по ознакомлении с изложенными в описании принципами изобретения.

III. ОБЩИЕ СПОСОБЫ

Стандартные способы молекулярной биологии описываются в публикациях Sambrook, Fritsch and Maniatis (1982 & 1989 2nd Edition, 2001 3rd Edition) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Sambrook and Russell (2001) *Molecular Cloning*, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Wu (1993) *Recombinant DNA*, Vol. 217, Academic Press, San Diego, CA). Стандартные способы также представлены в публикации Ausubel, et al. (2001) *Current Protocols in Molecular Biology*, Vols. 1-4, John Wiley and Sons, Inc. New York, NY, в которой описывается клонирование в бактериальных клетках и мутагенез ДНК (Vol. 1), клонирование в клетках млекопитающих и дрожжах (Vol. 2), гликоконъюгаты и экспрессия белков (Vol. 3) и биоинформатика (Vol. 4).

Описываются способы очистки белков, включая иммунопреципитацию, хроматографию, электрофорез, центрифугирование и кристаллизацию (Coligan, et al. (2000) *Current Protocols in Protein Science*, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York). Описываются химический анализ, химическая модификация, посттрансляционная модификация, получение слитых белков, гликозилирование белков (см., например, Coligan, et al. (2000) *Current Protocols in Protein Science*, Vol. 2, John Wiley and Sons, Inc., New York; Ausubel, et al. (2001) *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol.3, John Wiley and Sons, Inc., NY, NY, pp. 16.0.5-16.22.17; Sigma-Aldrich, Co. (2001) *Products for Life Science Research*, St. Louis, MO; pp. 45-89; Amersham Pharmacia Biotech (2001) *BioDirectory*, Piscataway, N.J., pp. 384-391). Описываются получение, очистка и фрагментация поликлональных и моноклональных антител (Coligan, et al. (2001) *Current Protocols in Immunology*, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York; Harlow and Lane (1999) *Using Antibodies*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Harlow and Lane, выше). Представлены стандартные способы характеристики взаимодействия лиганда / рецептора (см., например, Coligan, et al. (2001) *Current Protocols in Immunology*, Vol. 4, John Wiley, Inc., New York).

Могут быть получены моноклональные, поликлональные и гуманизированные антитела (см., например, Sheperd and Dean (eds.) (2000) *Monoclonal Antibodies*, Oxford

Univ. Press, New York, NY; Kontermann and Dubel (eds.) (2001) *Antibody Engineering*, Springer-Verlag, New York; Harlow and Lane (1988) *Antibodies A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp. 139-243; Carpenter, et al. (2000) *J. Immunol.* 165: 6205; He, et al. (1998) *J. Immunol.* 160: 1029; Tang et al. (1999) *J. Biol. Chem.* 274: 27371-27378; Baca et al. (1997) *J. Biol. Chem.* 272: 10678-10684; Chothia et al. (1989) *Nature* 342: 877-883; Foote and Winter (1992) *J. Mol. Biol.* 224: 487-499; Патент США №6,329,511).

Альтернативой гуманизации является использование фаг-дисплейных библиотек человеческих антител, или библиотек человеческих антител в трансгенных мышах (Vaughan et al. (1996) *Nature Biotechnol.* 14: 309-314; Barbas (1995) *Nature Medicine* 1: 837-839; Mendez et al. (1997) *Nature Genetics* 15: 146-156; Hoogenboom and Chames (2000) *Immunol. Today* 21: 371-377; Barbas et al. (2001) *Phage Display: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York; Kay et al. (1996) *Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual*, Academic Press, San Diego, CA; de Bruin et al. (1999) *Nature Biotechnol.* 17: 397-399).

Очистка антигена не является обязательной для генерации антител. Животные могут быть иммунизированы клетками с нужным антигеном. Затем из организма иммунизированных животных могут быть выделены спленоциты, и эти спленоциты могут быть слиты с линией клеток миеломы для образования гибридомы (см., например, Meyaard et al. (1997) *Immunity* 7: 283-290; Wright et al. (2000) *Immunity* 13: 233-242; Preston et al., выше; Kaithamana et al. (1999) *J. Immunol.* 163: 5157-5164).

Антитела могут быть конъюгированы, например, с низкомолекулярными лекарственными средствами, ферментами, липосомами, полиэтиленгликолем (PEG). Антитела могут применяться для терапии, диагностики, в комплексах или с другими целями, и к ним относятся антитела, например, соединенные с красителями, радиоизотопами, ферментами или металлами, например, коллоидным золотом (см., например, Le Doussal et al. (1991) *J. Immunol.* 146: 169-175; Gibellini et al. (1998) *J. Immunol.* 160: 3891-3898; Hsing and Bishop (1999) *J. Immunol.* 162: 2804-2811; Everts et al. (2002) *J. Immunol.* 168: 883-889).

Существуют способы проточной цитометрии, включая сортировку флуоресцентно-активированных клеток (FACS), (см., например, Owens, et al. (1994) *Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ; Givan (2001) *Flow Cytometry*, 2nd ed.; Wiley-Liss, Hoboken, NJ; Shapiro (2003) *Practical Flow Cytometry*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ). Доступны флуоресцентные реагенты, подходящие для модификации нуклеиновых кислот, включая праймеры и зонды для нуклеиновых кислот, полипептиды и антитела для применения, например, в качестве диагностических реагентов (Molecular Probes (2003) *Catalogue*, Molecular Probes, Inc., Eugene, OR; Sigma-Aldrich (2003) *Catalogue*, St. Louis, MO).

Описываются стандартные способы гистологии иммунной системы (см., например, Muller-Harmelink (ed.) (1986) *Human Thymus: Histopathology and Pathology*, Springer Verlag, New York, NY; Hiatt, et al. (2000) *Color Atlas of Histology*, Lippincott, Williams, and Wilkins, Phila, PA; Louis, et al. (2002) *Basic Histology: Text and Atlas*, McGraw-Hill, New York, NY).

Существуют пакеты программ и базы данных для определения, например, антигенных фрагментов, лидерных последовательностей, укладки белков, функциональных доменов, центров гликозилирования и выравнивания последовательностей (см., например, GenBank, Vector NTI® Suite (Informax, Inc, Bethesda, MD); GCG Wisconsin Package (Accelrys, Inc., San Diego, CA); DeCypher® (TimeLogic Corp., Crystal Bay, Nevada); Menne, et al. (2000) *Bioinformatics* 16: 741-742; Menne, et al. (2000) *Bioinformatics Applications Note* 16: 741-742; Wren, et al. (2002) *Comput. Methods Programs Biomed.* 68: 177-181; von Heijne (1983) *Eur. J.*

Biochem. 133: 17-21; von Heijne (1986) Nucleic Acids Res. 14: 4683-4690).

IV. Примеры

Пример 1: Комбинированное лечение авелумабом и акситинибом

Этот пример иллюстрирует клиническое исследование для оценки безопасности, эффективности, фармакокинетики и фармакодинамики авелумаба (MSB0010718C) в комбинации с акситинибом (AG-013736) у пациентов с не подвергавшейся лечению запущенной почечноклеточной карциномой (aRCC).

Данное исследование является открытым многоцентровым исследованием с многократным введением доз, предназначенным для оценки максимально переносимой дозы (MTD) и выбора рекомендуемой дозы 2 фазы (RP2D) для авелумаба (MSB0010718C) в комбинации с акситинибом (AG-013736). Сразу после определения MTD авелумаба, введенного в комбинации с акситинибом (подбора дозы), начинают фазу повышения дозы для дальнейшей характеристики комбинации с точки зрения профиля безопасности, противоопухолевой активности, фармакокинетики, фармакодинамики и модуляции биомаркера. План протокола представлен в Таблице 4.

Фаза подбора дозы определяет MTD и RP2D у пациентов с aRCC со светлоклеточной гистологией, которые ранее не подвергались системной терапии для лечения запущенной болезни, с использованием способа с интервалом вероятности модифицированной токсичности (mTPI). При подборе дозы придерживаются схемы "вверх и вниз", с испытанием до 4 потенциальных уровней доз (DL), как показано в Таблице 4.

Фаза подбора дозы позволяет определить увеличенную пробную дозу для авелумаба в комбинации с акситинибом у пациентов с aRCC, которые ранее не подвергались системной терапии для лечения запущенной болезни. Увеличенной пробной дозой является либо MTD (т.е., наивысшая доза авелумаба и акситиниба, связанная с возникновением DLT (дозолимитирующей токсичности) у <33% пациентов), либо RP2D, т.е., наивысшая испытанная доза, заявляемая исследователями и спонсором как безопасная и переносимая. Сразу после определения увеличенной пробной дозы начинают фазу повышения дозы и авелумаб в комбинации с акситинибом испытывают в группе, насчитывающей приблизительно до 20-40 пациентов с ранее не подвергавшейся лечению aRCC.

Таблица 4

Группы	Назначенные процедуры
Фаза подбора дозы	Группа 1: авелумаб 10 мг/кг IV Q2W; акситиниб 5 мг п/о BID Группа 2: авелумаб 5 мг/кг IV Q2W; акситиниб 5 мг п/о BID Группа 3: авелумаб 10 мг/кг IV Q2W; акситиниб 3 мг п/о BID Группа 4: авелумаб 5 мг/кг IV Q2W; акситиниб 3 мг п/о BID
Фаза повышения дозы	Группа 1: авелумаб 10 мг/кг IV Q2W; акситиниб 5 мг п/о BID Группа 2: авелумаб 5 мг/кг IV Q2W; акситиниб 5 мг п/о BID Группа 3: авелумаб 10 мг/кг IV Q2W; акситиниб 3 мг п/о BID Группа 4: авелумаб 5 мг/кг IV Q2W; акситиниб 3 мг п/о BID

Критерии включения: гистологически или цитологически подтвержденная запущенная RCC со светлоклеточным компонентом. Первичная опухоль удалена. Обязательно наличие архивных зафиксированных формалином, залитых парафином (FFPE) опухолевых тканевых блоков из образцов удаленных первичных опухолей (все пациенты). Только для дополнительной когорты обязательна биопсия de novo опухоли из местно-рецидивирующего или метастатического поражения, если она не получена в ходе процедуры, выполняемой в пределах 6 месяцев со дня включения в исследование, и если пациент не получал интервенционного системного противоракового лечения.

По меньшей мере одно измеримое поражение, определяемое при помощи RECIST, версия 1.1. Возраст ≥ 18 лет. Функциональный статус 0 или 1 по критериям Восточной объединенной группы онкологов (ECOG). Достаточная функция костного мозга, функции почек и печени.

5 Количество пациентов, включаемых в фазе подбора дозы зависит от наблюдаемого профиля безопасности и количества испытанных уровней доз. Предусматривается включение в исследование приблизительно до 55 пациентов (включая фазу подбора дозы и фазу повышения дозы).

Исследуемое лечение: акситиниб вводят перорально (РО) два раза в день (BID), вне зависимости от приема пищи, в непрерывном режиме дозирования. Авелумаб вводят 10 путем однократной внутривенной инфузии (IV) каждые две недели (Q2W). У всех пациентов лечение исследуемыми медикаментами продолжают до подтвержденного прогрессирования болезни, отказа пациента, потери связи с пациентом для дальнейшего наблюдения, неприемлемой токсичности или прекращения исследования со стороны 15 спонсора, в зависимости о более раннего события.

Для ослабления связанных с инфузией авелумаба реакций режим премедикации с использованием от 25 до 50 мг IV или перорального эквивалента дифенгидрамина и 650 мг IV или перорального эквивалента ацетаминофена / парацетамола (согласно 20 местной практике) применяют приблизительно за 30-60 минут до каждой дозы авелумаба. Возможны изменения в зависимости от местных стандартов лечения и рекомендаций, согласно обстоятельствам.

Оценка опухоли: противоопухолевую активность оценивают путем радиологической оценки опухоли с 6-недельными интервалами, применяя RECIST, версия 1.1. Полный и частичный ответ подтверждается при повторной визуализации по меньшей мере через 25 4 недели после первоначального документирования. Через 1 год после включения в исследование оценки опухоли проводят реже, т.е., с 12-недельными интервалами. Кроме того, радиологические оценки опухоли также проводят каждый раз, когда есть подозрение на прогрессирование болезни (например, симптоматическое ухудшение) и во время окончания лечения / исключения (если не проводилось в предыдущие 6 недель). 30 Если рентгеновская визуализация показывает прогрессирование болезни (PD), оценка опухоли должна повторяться по меньшей мере на ≥ 4 недели позднее с целью подтверждения PD.

Сканограммы головного мозга, полученные при помощи компьютерной томографии (СТ) или магнитно-резонансной томография (MRI), требуются на исходном уровне и 35 при подозрении на метастазы в головной мозг. Остеосцинтиграфия (сцинтиграфия скелета) или 18фтордезоксиглюкоза-позитронно-эмиссионная томография / СТ(18FDG-PET/СТ) требуется на исходном уровне, а затем каждые 16 недель лишь в случае наличия метастазов в кости на исходном уровне. В других случаях визуализация скелета требуется лишь при подозрении на новые метастазы в кости. Визуализация скелета также требуется 40 во время подтверждения CR для пациентов с метастазами в кости.

Оценка фармакокинетики / иммуногенности: осуществляют отбор проб на РК / иммуногенность. Для выяснения фармакокинетического влияния авелумаба на акситиниб 7-дневный вводный период монотерапии с применением акситиниба включают перед Циклом 1 для всех пациентов в фазе подбора дозы и по меньшей мере 45 8 пациентов в фазе повышения дозы в рамках исследования. Поскольку авелумаб имеет длительный период полувыведения (3-5 дней), проведение вводного периода для исследования РК только авелумаба не представляется возможным. Таким образом, влияние акситиниба на авелумаб определяют путем сравнения минимальной

концентрации авелумаба в равновесном состоянии в присутствии акситиниба с показателями для авелумаба в отдельности в предыдущих исследованиях.

Оценка биомаркеров: главная цель анализов биомаркеров, проводимых в этом исследовании, состоит в изучении биомаркеров, позволяющих спрогнозировать преимущества лечения с применением комбинации авелумаба и акситиниба. Кроме того, исследование биомаркеров на образцах опухоли и крови осуществляют для дополнительного выяснения механизма действия авелумаба в комбинации с акситинибом, а также потенциальных механизмов резистентности.

Биологические образцы опухолей из архивных образцов тканей и метастатических поражений используют для анализа подходящих ДНК, РНК или маркерных белков или соответствующей сигнатуры маркеров на их пригодность для определения пациентов, для которых польза от лечения исследуемыми медикаментами будет наиболее вероятной. К маркерам, которые могут анализироваться, относятся, помимо прочих, инфильтрирующие экспрессирующую PD-L1 опухоль CD8+ Т лимфоциты и количественное определение последовательности Т-клеточного рецепторного гена. Необязательные биопсии опухолей, взятые после прогрессирования болезни, используют для исследования приобретенных механизмов резистентности. Приемлемыми являются только пункционная биопсия или эксцизионная биопсия или резекционные образцы.

Периферическая кровь: образцы хранят как цельную кровь, сыворотку и плазму в биобанке для исследовательской оценки биомаркеров, если это не запрещено местными нормами или решением Институционального наблюдательного совета или Комитета по этике. Образцы используют для распознавания или характеристики клеток, ДНК, РНК или маркерных белков, которые, согласно имеющимся данным или предположениям, имеют отношение к механизмам действия или выработке резистентности к авелумабу, применяемому в комбинации с акситинибом. К ним относятся биомаркеры, которые могут способствовать распознаванию пациентов, для которых может быть достигнут оптимальный положительный результат от лечения авелумабом в комбинации с акситинибом, включая, помимо прочих, биомаркеры, связанные с противоопухолевым иммунным ответом или модуляцией мишени, такие, как растворимые VEGF-A, IL-8, IFN γ и/или тканевые FoxP3, PD-1, PD-L2. Биологические образцы берут перед введением дозы и одновременно с образцами для РК, насколько это возможно.

Пример 2: Комбинированное лечение с применением акситиниба и авелумаба по сравнению с сунитинибом

Этот пример иллюстрирует клиническое исследование для оценки безопасности и эффективности авелумаба (MSB0010718C) в комбинации с акситинибом (AG-013736) и для демонстрации преимущества этой комбинации по сравнению с применяемой в качестве стандарта лечения монотерапией с применением сунитиниба в лечении первой линии для пациентов с запущенной RCC (aRCC). Малат сунитиниба (SUTENT®) является предназначенным для перорального применения многоцелевым TKI рецептора фактора стволовых клеток (KIT), рецепторов тромбоцитарного фактора роста (PDGFR), VEGFR, рецептора нейротрофического фактора глиальной клеточной линии (RET) и FMS-подобной тирозинкиназы 3 (FLT3) и рецептора колониестимулирующего фактора Типа 1 (CSR-1R), утвержденных во многих странах для лечения aRCC, стромальной опухоли желудочно-кишечного тракта (GIST) с резистентностью к иматинибу или его непереносимостью, высокодифференцированных метастатических поджелудочных нейроэндокринных опухолей (NET).

Исследование представляет собой Фазу 3 рандомизированного многонационального

многоцентрового открытого исследования с двумя параллельными группами, в котором, согласно плану, приблизительно 465 пациентов должны рандомизировано получать авелумаб в комбинации с акситинибом или сунитиниб в качестве монотерапии: Группа А: авелумаб в комбинации с акситинибом; Группа В: сунитиниб. Пациентов

5 распределяют в соответствии с функциональным статусом ECOG (0 или 1) и LDH ($>1,5$ ULN или $\leq 1,5$ ULN). В группе А (авелумаб в комбинации с акситинибом), авелумаб вводят в форме 1-часовой внутривенной инфузии (IV) каждые 2 недели в 6-недельном цикле. Акситиниб вводят перорально (PO) два раза в день (BID), вне зависимости от приема пищи, в непрерывном режиме дозирования.

10 Лечение с применением исследуемых медикаментов продолжают до подтвержденного прогрессирования болезни, отказа пациента, потери связи с пациентом для дальнейшего наблюдения, неприемлемой токсичности или прекращения исследования со стороны спонсора, в зависимости о более раннего события. Лечение с применением акситиниба может регулироваться путем прекращения введения препарата, со снижением дозы или

15 без него. Возможно повышение дозы акситиниба для одного и того же пациента при соблюдении критериев повышения дозы для этого пациента.

Исследуемое лечение: акситиниб вводят перорально два раза в день PO в режиме непрерывного ежедневного применения. Авелумаб вводят в форме 1-часовой внутривенной инфузии каждые 2 недели в 6-недельном цикле. Сунитиниб вводят

20 перорально 50 мг раз в день согласно схеме, предполагающей 4 недели лечения с последующими 2 неделями перерыва (схема 4/2). Пациенты, у которых наблюдается прогрессирование болезни после исследуемого лечения, но в остальном продолжают демонстрировать улучшение клинических показателей от исследуемого лечения, получают разрешение на продолжение приема авелумаба в комбинации с акситинибом

25 или авелумаба в качестве монотерапии или акситиниба в качестве монотерапии или сунитиниба в качестве монотерапии, при условии определения лечащим врачом благоприятного соотношения пользы / риска.

Оценка опухолей: противоопухолевую активность оценивают путем радиологической

оценки опухоли на основе принципов RECIST, версия 1.1, для первичных и вторичных

30 конечных точек и принципов иммуноопосредованных критериев RECIST (irRECIST) для поисковых конечных точек. Оценку опухолей выполняют каждые 6 недель (Q6W) до 1 года после первой терапевтической дозы; затем оценку опухолей выполняют каждые 2 цикла. Кроме того, радиологическую оценку опухолей также проводят каждый раз, когда возникает подозрение на прогрессирование болезни (например,

35 симптоматическое ухудшение), во время визита, связанного с окончанием лечения / исключением (если не проводилось в предыдущие 6 недель) и в течение краткосрочного периода последующего наблюдения (только при визите на 90-й день); следующие оценки опухолей в течение долгосрочного периода последующего наблюдения могут проводиться в отсутствие отзыва согласия, независимо от того, начата ли последующая

40 противораковая терапия.

Оценка опухолей охватывает все известные или подозреваемые очаги поражения. Визуализация может включать КТ- или МРТ-сканограммы грудной клетки, брюшной полости и таза; КТ- или МРТ-сканограммы головного мозга (требуемые на исходном уровне и при подозрении на метастазы в головной мозг) и остеосцинтиграммы или

45 18FDG PET (требуемые на исходном уровне, а затем каждые 16 недель только при наличии метастазов в кости на исходном уровне). В других случаях визуализация скелета требуется только при подозрении на метастазы в кости и во время подтверждения полного ответа для пациентов с метастазами в кости. КТ-сканограммы выполняют с

контрастными агентами, если это не противопоказано из медицинских соображений. Такую же технологию визуализации, применяемую для характеристики каждого распознанного и отмеченного поражения на исходном уровне, применяют при последующих оценках опухолей. Противоопухолевую активность определяют путем радиологической оценки опухолей, осуществляемых на исходном уровне, через 6 недель после первой дозы терапии, а затем каждые 6 недель до 1 года после первой дозы терапии и затем каждые 12 недель (если не проводилось в предыдущие 6 недель) и в течение краткосрочного периода последующего наблюдения (только при визите на 90-й день); следующие оценки опухолей в течение долгосрочного периода последующего наблюдения могут проводиться в отсутствие отзыва согласия, независимо от того, начата ли последующая противораковая терапия. Дальнейшие оценки путем визуализации могут выполняться в любое время, если это клинически показано (например, подозрение на PD, симптоматическое ухудшение и т.п.). Оценку ответа осуществляют при помощи RECIST, версия 1.1, и согласно иммунозависимым критериям ответа (irRC) (Nishino 2013). Собирают все радиографические изображения, которые могут подвергаться объективной проверке независимой радиографической лабораторией в качестве третьей стороны для независимой центральной оценки в слепом режиме (BICR).

Первичная конечная точка: выживаемость без прогрессирования (PFS), определяемая путем независимой центральной оценки в слепом режиме (BICR) согласно RECIST v1.1. Вторичные конечные точки: общая выживаемость (OS); объективный ответ опухоли (OR), определяемый путем BICR согласно RECIST, версия 1.1.; контроль заболевания (DC), определяемый путем BICR согласно RECIST, версия 1.1.; время до события: время до ответа (TTR), длительность ответа (DR); нежелательные явления (AE), характеризующиеся по типу, частоте, тяжести (классифицируемой по критериям оценки степени тяжести наиболее частых нежелательных явлений Национального института рака (NCI CTCAE v.4.03), времени, серьезности и взаимосвязи с исследуемой терапией; отклонения лабораторных показателей от нормы, характеризующиеся по типу, частоте, тяжести (классифицируемой по NCI CTCAE v.4.03) и времени; РК-параметры, включая минимальную концентрацию (Strough) авелумаба и минимальную концентрацию (Strough) и максимальную концентрацию (Stax) акситиниба; статус биомаркера опухолевой ткани (т.е., положительный или отрицательный; например, на основе экспрессии PD-L1 и/или количественного определения инфильтрирующих опухоль CD8+ Т лимфоцитов, согласно иммуногистохимической оценке); меры клинического исхода (PFS, OS, OR, DCR, DR и TTR) в положительных и отрицательных в отношении биомаркера подгруппах; антитела к лекарственному средству (ADA; нейтрализующие антитела) против авелумаба, при его применении в комбинации с акситинибом; сообщаемые пациентами исходы (PRO): функциональный индекс почечных симптомов (FKSI-19), европейский опросник оценки качества жизни (EQ 5D).

Пример 3: Комбинированное лечение антителом против 4-1BB и авелумабом

Этот пример иллюстрирует терапевтическую активность комбинированной терапии с применением антитела против 4-1BB и авелумаба в мышинных моделях меланомы B16F10 и карциномы толстой кишки MC38.

Шесть самок мышей в возрасте от 6 до 8 недель C57BL/6 приобретали у Jackson Laboratories. Всех животных помещали в беспатогенный виварий в Rinat и эксперименты проводили согласно протоколам в соответствии с рекомендациями Институционального комитета по содержанию и использованию животных (IACUC).

Линию клеток меланомы B16F10 приобретали в Американской коллекции типовых

культур (АТСС). Линия клеток карциномы толстой кишки MC38 была любезно предоставлена д-ром Антони Рибасом из Калифорнийского университета, Лос-Анджелес, Калифорния. Клетки культивировали в модифицированной по Дульбекко среде Игла (DMEM), дополненной 10% эмбриональной телячьей сывороткой (FBS), 2 mM L-глутамата при 37°C в 5% диоксида углерода (CO₂), и подвергали ИМПАКТ-тесту на патогены в Диагностической лаборатории по исследованиям на животных (RADIL) (Колумбия, Миссури). Беспатогенные клетки, которые выращивали в экспоненциальной фазе роста, собирали и использовали для инокуляции опухоли.

Антитела, используемые для поверхностного или внутриклеточного окрашивания, приобретали у BD Biosciences или eBioscience. Они представляли собой антитело крысы против мышинового CD4-PerCP-Cy5.5 (клон RM4-5, BD Biosciences), крысы против мышинового CD8a-APC-H7 (клон 53-6.7, BD Biosciences), крысы против мышинового CD25-PE-Cy7 (клон PC61, BD Biosciences), крысы против мышинового CD45-BV510 (клон 30-F11, BD Biosciences), крысы против мышинового CD90.2-FITC (клон 53-2.1, BD Biosciences), крысы против мышинового Eomes-PE (клон: Danllmag, eBioscience), крысы против мышинового FoxP3-eFluor450 (клон FJK-16s, eBioscience) и крысы против мышинового NKp46-BV421 или -AF647 (клон 29A1.4, BD Biosciences). Живые клетки отделяли от мертвых с использованием комплекта LIVE/DEAD Fixable Blue Dead Cell Stain Kit (Invitrogen).

Терапевтическое mAb мыши против мышинового 4-1BB (мышинный иммуноглобулин G1 [mlgG1]), полученное из исходного клона MAB9371 (R&D Systems), было приготовлено силами внутренних специалистов. Авелумаб был получен от Merck Serono. Изотипический контрольный mlgG1 (клон: MOPC-21) приобретали у компании BioXcell. Человеческий IgG1 был приготовлен силами внутренних специалистов. Антитело против 4-1BB и авелумаб разводили до концентрации 0,1 мг/мл и 1 мг/мл, соответственно, в фосфатно-буферном растворе (PBS) (Life Technologies) и каждой мыши вводили дозу 0,2 мл внутривенно (ip) тремя дозами с интервалами от 3 до 4 дней.

Мышей C57BL/6 инокулировали подкожно в правый бок с введением клеток $0,2 \times 10^6$ B16F10 или $0,5 \times 10^6$ MC38 в 0,1 мл бессывороточного DMEM. Когда опухоли достигали заданного размера, мышей на рандомизированной основе распределяли по экспериментальным группам. Лечение начинали в один день с рандомизацией. Размер опухоли измеряли два раза в неделю по двум измерениям при помощи кронциркуля и объем выражали в кубических миллиметрах по формуле: $V = 0,5 L \times W^2$, где L означает самый длинный диаметр опухоли, и W означает диаметр, перпендикулярный L. Показатели массы тела записывали раз в неделю.

Опухоли рассеивали в одноклеточную суспензию, применяя осторожную магнитно-активированную клеточную сортировку (MACS) и комплект Miltenyi Mouse Dissociation Kit (Miltenyi Biotec) согласно протоколу производителя с модификацией. Аммониево-хлоридно-калиевый (АСК) лизирующий буфер (Life Technologies) применяли для удаления эритроцитов. Клетки дважды промывали окрашивающим буфером для FACS (PBS, дополненный 2% FBS и 0,9% азидом натрия [NaN₃]) и в конце ресуспендировали в окрашивающем буфере для FACS.

Аликвотное количество клеток предварительно инкубировали с 10 мкг/мл BD Fc Block мыши (BD Biosciences) в течение 10 минут перед добавлением фенотипирующих mAb к специфически окрашенным иммунным клеткам. Антигены клеточной поверхности метили путем инкубации клеток при 4°C в течение 30 минут. После удаления несвязанных mAb клетки дважды промывали окрашивающим буфером для FACS, фиксировали в

фиксирующем буфере (PBS + 2% FBS + 1% параформальдегид) и хранили при 4°C в темноте до анализа путем проточной цитометрии. Внутриклеточное окрашивание осуществляли с применением комплекта Foxp3/Transcription Factor Staining Buffer (eBioscience) в соответствии с протоколом производителя. Данные проточной цитометрии получали с применением LSR Fortessa (BD Biosciences) и анализировали при помощи FlowJo (TreeStar Inc.).

Результаты выражали как средние значения $\pm$ SEM. Статистические анализы выполняли с применением GraphPad Prism 6.0. Однофакторный или двухфакторный дисперсный анализ ANOVA применяли для сравнения статистических различий между несколькими группами относительно изотипического контроля. $P < 0,05$ рассматривали как существенное различие.

Использовали две мышиных модели для оценки терапевтической эффективности антитела против 4-1BB в комбинации с авелумабом. В модели меланомы B16F10 средний начальный размер опухоли составлял от 67 до 78 мм³ (в пределах от 44 до 114 мм³; n=7 животных на группу) (Таблица 5). До 26-го дня после инокуляции опухолей опухоли в группах, получавших изотип, только антитело против 4-1BB и только авелумаб, достигали среднего размера 1206 $\pm$ 397 мм³, 1979 $\pm$ 425 мм³ и 2112 $\pm$ 429 мм³, соответственно (Таблица 5). Для сравнения, заметное подавление опухоли (в среднем 341 $\pm$ 146 мм³) наблюдали при введении животным антитела против 4-1BB и авелумаба одновременно ($p < 0,0001$ по сравнению с группами, получавшими один агент) (Таблица 5).

Таблица 5. Изменения размеров опухоли (средний $\pm$ SEM) подкожной меланомы B16F10 со временем

Дни	Изотипы			Анти-4-1BB			Авелумаб			Анти-4-1BB / Авелумаб		
	Средн.	SEM	N	Средн.	SEM	N	Средн.	SEM	N	Средн.	SEM	N
13	67	4	7	69	6	7	78	8	7	70	10	7
17	251	109	7	364	87	7	327	78	7	219	57	7
20	475	222	7	725	266	7	654	174	7	272	94	7
24	909	368	7	1511	417	7	1304	274	7	243	106	6
26	1206	397	7	1979	425	7	2112	429	7	341	146	6

Объем опухоли выражается в мм³.

N = Количество животных в каждой группе; SEM = Стандартная погрешность среднего.

В модели карциномы толстой кишки MC38 средний начальный размер опухоли составлял приблизительно 60 мм³ (в пределах от 41 до 92 мм³; n=10 животных на группу) (Таблица 6). В конце исследования (23-й день после имплантации опухоли) средний объем опухоли в группах, получавших, только изотип, только антитело против 4-1BB, только авелумаб и комбинацию антитела против 4-1BB/авелумаб, составлял 1177 $\pm$ 252 мм³, 1093 $\pm$ 183 мм³, 901 $\pm$ 206 мм³ и 530 $\pm$ 90 мм³, соответственно (Таблица 6). Уменьшение размера опухоли при комбинированном лечении было значительным по сравнению с изотипической контрольной группой ($p < 0,001$) и группой, получавшей только 4-1BB ($p < 0,01$), но не с группой, получавшей авелумаб ($p > 0,05$) (Таблица 6).

**Таблица 6. Изменения размеров опухоли (средний $\pm$ SEM) подкожной
Карцинома толстой кишки MC38 со временем**

Дни	Изотипы			Анти-4-1BB			Авелумаб			Анти-4-1BB / Авелумаб		
	Средн.	SEM	N	Средн.	SEM	N	Средн.	SEM	N	Средн.	SEM	N
7	60	5	10	62	3	10	63	5	10	64	5	10
10	130	21	10	122	15	10	127	19	10	117	13	10
14	357	72	10	250	30	10	254	42	10	146	42	10
16	501	108	10	355	56	10	384	86	10	176	64	10
18	680	148	10	508	76	10	523	114	10	246	93	10
21	987	236	9	785	143	10	714	158	9	416	149	10
23	1177	252	9	1093	183	10	901	206	9	530	190	10

Объем опухоли выражается в мм³.

N = Количество животных в каждой группе; SEM = Стандартная погрешность среднего.

Инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL) выделяли из опухолей MC38 после лечения и анализировали на маркеры, ассоциированные с противоопухолевым иммунным ответом. Комбинированное лечение способствовало инфильтрации Т-клеток в опухоли со средним показателем 53% общих CD45+ клеток, тогда как частота Т-клеток (CD45+ клеток) составляла 25%, 31% и 36% в группах, получавших изотип, только антитело против 4-1BB и только авелумаб, соответственно (Фигура 1).

Соотношение CD8+ Т-клеток / регуляторных Т-клеток (Treg) в группах, получавших изотип и авелумаб, составляло 1,2 и 2,5, соответственно. Это соотношение увеличивалось до 10 и 21 в группах, получавших только антитело против 4-1BB и в комбинации с авелумабом, соответственно (Фигура 2). Кроме того, индукция Eomes, маркера, ассоциированного с эффектором / дифференциацией памяти Т-клеток, наблюдалась в группах, получавших только антитело против 4-1BB и комбинацию антитела против 4-1BB и авелумаба (Фигура 3).

Результаты демонстрируют, что лечение антителом против 4-1BB в комбинации с авелумабом имеет синергетический противоопухолевый эффект, сопровождаемый обогащением Т-клеток в опухоли, повышенным соотношением CD8+ Т-клеток / регуляторных Т-клеток (Treg) и индукцией экспрессии эомезодермина (Eomes). Кроме того, комбинированная терапия обеспечивала противоопухолевый иммунный ответ в микроокружении опухоли.

Пример 4: Комбинированное лечение запущенных злокачественных опухолей с применением авелумаба и PF-05082566

Этот пример иллюстрирует клиническое исследование для изучения безопасности, эффективности, фармакокинетики и фармакодинамики авелумаба (MSB0010718C) в комбинации с PF-05082566, агонистическим антителом IgG2 против 4-1BB, у пациентов с местнораспространенными или метастатическими солидными опухолями (например, немелкоклеточным раком легкого (NSCLC), меланомой и плоскоклеточной карциномой (SCCHN)). План протокола представлен в Таблице 7.

Таблица 7

Группы	Назначенные процедуры
Когорта A1: пациенты с NSCLC, получавшие 10 мг/кг авелумаба + 500 мг PF-05082566	Авелумаб 10 мг/кг IV Q2W; PF-05082566 500 мг IV каждые 4 недели. Лечение с применением комбинации авелумаба с PF-05082566 продолжают до прогрессирования болезни.
Когорта A2: пациенты с NSCLC, получавшие 10 мг/кг авелумаба + 100 мг PF-05082566	Авелумаб 10 мг/кг IV Q2W; PF-05082566 100 мг IV каждые 4 недели. Лечение с применением комбинации авелумаба с PF-05082566 продолжают до прогрессирования болезни.
Когорта A3: пациенты с NSCLC, получавшие 10 мг/кг авелумаба + 20 мг PF-05082566	Авелумаб 10 мг/кг IV Q2W; PF-05082566 20 мг IV каждые 4 недели. Лечение с применением комбинации авелумаба с PF-05082566 продолжают до прогрессирования болезни.
Когорта A4: пациенты с меланомой, получавшие 10 мг/кг авелумаба + 100 мг PF-05082566	Авелумаб 10 мг/кг IV Q2W; PF-05082566 100 мг IV каждые 4 недели. Лечение с применением комбинации авелумаба с PF-05082566 продолжают до прогрессирования болезни.
Когорта A5: пациенты с SCCN, получавшие 10 мг/кг авелумаба + 100 мг PF-05082566	Авелумаб 10 мг/кг IV Q2W; PF-05082566 100 мг IV каждые 4 недели. Лечение с применением комбинации авелумаба с PF-05082566 продолжают до прогрессирования болезни.

Пример 5: Комбинированное лечение рака с применением авелумаба, антитела против 4-1BB и антитела против M-CSF

Этот пример иллюстрирует терапевтическую активность тройной комбинированной терапии с применением антитела против 4-1BB, антитела против M-CSF и антитела против PD-L1 авелумаба в мышинных моделях карциномы толстой кишки MC38.

Шесть самок мышей в возрасте от 6 до 8 недель C57BL/6 приобретали у Jackson Laboratories. Всех животных помещали в беспатогенный виварий в Rinat и эксперименты проводили согласно протоколам в соответствии с рекомендациями Институционального комитета по содержанию и использованию животных (IACUC).

Линия клеток карциномы толстой кишки MC38 была любезно предоставлена д-ром Антони Рибасом из Калифорнийского университета, Лос-Анджелес, Калифорния. Клетки культивировали в модифицированной по Дульбекко среде Игла (DMEM), дополненной 10% эмбриональной телячьей сывороткой (FBS), 2 mM L-глутамата при 37°C в 5% диоксида углерода (CO₂), и подвергали ИПАКТ-тесту на патогены в Диагностической лаборатории по исследованиям на животных (RADIL) (Колумбия, Миссури). Беспатогенные клетки, которые выращивали в экспоненциальной фазе роста, собирали и использовали для инокуляции опухоли.

Терапевтическое антитело мыши против мышинного 4-1BB mAb (мышинный иммуноглобулин G1 [mlgG1]), полученное из исходного клона MAB9371 (R&D Systems), было приготовлено силами внутренних специалистов. Авелумаб был получен от Merck Serono. Антитело крысы против мышинного M-CSF (клон 5A1), IgG1 крысы (клон HRPN) и изотипический контрольный mlgG1 (клон: MOPC-21) приобретали у BioXcell. Человеческий изотипический IgG1 был приготовлен силами внутренних специалистов.

Антитело против 4-1BB, авелумаб и mAb против M-CSF разводили до концентрации 0,1 мг/мл, 1 мг/мл и 1,5 мг/мл, соответственно, в фосфатно-буферном растворе (PBS) (Life Technologies) и каждой мыши вводили дозу 0,2 мл внутривенно (ip) тремя дозами с интервалами от 3 до 4 дней.

- 5 Мышей C57BL/6 инокулировали подкожно в правый бок с введением клеток $0,5 \times 10^6$ MC38 в 0,1 мл DMEM. Когда опухоли достигали среднего размера $\sim 60 \text{ мм}^3$ (в пределах от 41-93 мм^3), мышей на рандомизированной основе распределяли по группам по 10 животных на группу и лечение начинали в тот же день. Размер опухоли измеряли по двум измерениям при помощи кронциркуля и объем выражали в мм^3 по формуле:
- 10 $V = 0,5 L \times W^2$, где L и W представляют длинный и короткий диаметры опухоли, соответственно. Показатели массы тела записывали раз в неделю.

- Результаты выражали как средние значения $\pm$ SEM (Таблица 8). Статистические анализы выполняли с применением GraphPad Prism 6.0. Однофакторный или
- 15 двухфакторный дисперсный анализ ANOVA применяли для сравнения статистических различий между несколькими группами относительно изотипического контроля. $P < 0,05$ рассматривали как существенное различие.

20

25

30

35

40

45

Таблица 8

Группа 1. Изотипический контроль			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
7	60	5	10
10	130	21	10
14	357	72	10
16	501	108	10
18	680	148	10
21	987	236	9
23	1177	252	9
Группа 2. Антитело против 4-1BB (1 мг/кг)			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
7	62	3	10
10	122	15	10
14	250	30	10
16	355	56	10
18	508	76	10
21	785	143	10
23	1093	183	10
Группа 3. Антитело против M-CSF (15 мг/кг)			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
7	58	4	10
10	138	27	10
14	196	32	10
16	268	43	10
18	350	56	10
21	432	84	9
23	572	123	9
Группа 4. Антитело против PD-L1 (авелумаб, 10 мг/кг)			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
7	63	5	10
10	127	19	10
14	254	42	10
16	384	86	10
18	523	114	10
21	714	158	9
23	901	206	9
Группа 5. Антитело против 4-1BB (1 мг/кг) + антитело против PD-L1 (авелумаб, 10 мг/кг)			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N

7	64	5	10
10	117	13	10
14	146	42	10
16	176	64	10
18	246	93	10
21	416	149	10
23	530	190	10
Группа 6. Антитело против М-CSF (15 мг/кг) + антитело против PD-L1 (авелумаб, 10 мг/кг)			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
7	62	4	10
10	106	10	10
14	182	29	10
16	211	32	9
18	297	65	9
21	436	112	9
23	499	145	9
Группа 7. Антитело против 4-1BB (1 мг/кг) + антитело против М-CSF (15 мг/кг) + антитело против PD-L1 (авелумаб, 10 мг/кг)			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
7	61	4	10
10	120	16	10
14	139	15	10
16	145	20	10
18	166	20	10
21	214	28	10
23	277	39	10

Лечение с применением тройной комбинации антитела против 4-1BB, авелумаба и антитела против М-CSF задерживало рост опухоли MC38 по сравнению с изотипическим контролем (Таблица 8). Тройная комбинация антител (Таблица 8, Группа 7) была более эффективной, чем любая двойная комбинация авелумаба и антитела против 4-1BB (Таблица 8, Группа 5) или авелумаба и антитела против CSF-1 (Таблица 8, Группа 6). Например, на 23-й день после инокуляции опухолей опухоли у животных, подвергавшихся лечению с применением тройной комбинации авелумаба, антитела против 4-1BB и антитела против CSF-1 имела средний размер 277 мм³. Для сравнения, опухоли у животных, подвергавшихся лечению с применением двойной комбинации авелумаба и антитела против 4-1BB или авелумаба и антитела против CSF-1 имела средний размер 530 мм³ и 499 мм³, соответственно, на 23-й день. Опухоли, у животных, получавших изотипический контроль, имели средний размер 1177 мм³ на 23-й день. Опухоли, у животных, получавших антитело против 4-1BB, имели средний размер 1093 мм³ на 23-й день. Опухоли, у животных, получавших антитело против CSF-1, имели средний размер 572 мм³ на 23-й день. Опухоли, у животных, получавших антитело против PD-L1 (авелумаб), имели средний размер 901 мм³ на 23-й день. Эти результаты демонстрируют, что лечение с применением тройной комбинации антитела против 4-1BB, авелумаба и антитела против М-CSF является более эффективным при лечении рака по сравнению с одним антителом или двойным комбинированным лечением с применением антител.

Пример 6: Комбинированное лечение карциномы толстой кишки с применением авелумаба, антитела против 4-1BB и антитела против OX40

Этот пример иллюстрирует терапевтическую активность тройной комбинированной терапии с применением антитела против PD-L1 авелумаба, антитела против 4-1BB и антитела против OX40 в мышинных моделях рака.

Использовали две мышинных модели для оценки терапевтической эффективности комбинированного лечения с применением антитела против OX40, антитела против 4-1BB и авелумаба. Шесть самок мышей в возрасте от 6 до 8 недель C57BL/6 или Balb/C приобретали у Jackson Laboratories. Всех животных помещали в беспатогенный виварий в Rinat и эксперименты проводили согласно протоколам в соответствии с рекомендациями Институционального комитета по содержанию и использованию животных (IACUC).

Линию клеток меланомы B16F10 приобретали в Американской коллекции типовых культур (ATCC). Линия клеток карциномы толстой кишки MC38 была любезно предоставлена д-ром Антони Рибасом из Калифорнийского университета, Лос-Анджелес, Калифорния. Клетки культивировали в модифицированной по Дульбекко среде Игла (DMEM), дополненной 10% эмбриональной телячьей сывороткой (FBS), 2 mM L-глутамата при 37°C в 5% диоксида углерода (CO₂). Клетки, выращиваемые в экспоненциальной фазе роста, собирали и использовали для инокуляции опухоли.

Терапевтические антитела мыши против OX40 с изотипом mIgG1 или mIgG2a (mIgG1 против OX40 и mIgG2a против OX40, соответственно) получали из исходного клона OX86 силами внутренних специалистов. Терапевтическое антитело мыши против мышинного 4-1BB (мышиный иммуноглобулин G1 [mIgG1]), полученное из исходного клона MAB9371 (R&D Systems), было приготовлено силами внутренних специалистов. Авелумаб был получен от Merck Serono. Изотипический контрольный mIgG1 (клон: MOPC-21) и mIgG2a (C1.18.4) приобретали у компании BioXcell. Человеческий IgG1 был приготовлен силами внутренних специалистов. Антитело против OX40, антитело против 4-1BB и авелумаб вводили в дозе 3 мг/кг, 1 мг/кг и 20 мг/кг в модели B16F10 и 1 мг/кг, 1 мг/кг и 10 мг/кг в модели MC38, соответственно, в фосфатно-буферном растворе (PBS) (Life Technologies) и каждой мыши вводили дозу 0,2 мл внутрибрюшинно (ip) тремя дозами с интервалами от 3 до 4 дней.

Мышей C57BL/6 инокулировали подкожно в правый бок с введением клеток 0,3×10⁶ B16F10 в 0,1 мл PBS. Мышей Balb/C инокулировали подкожно в правый бок с введением клеток 0,5×10⁶ MC38 в 0,1 мл PBS. Когда опухоли достигали заданного размера, мышей на рандомизированной основе распределяли по экспериментальным группам. Лечение начинали в один день с рандомизацией. Размер опухоли измеряли два раза в неделю по двум измерениям при помощи кронциркуля и объем рассчитывали в кубических миллиметрах по формуле: $V=0,5 L \times W^2$, где L означает самый длинный диаметр опухоли, и W означает диаметр, перпендикулярный L. Показатели массы тела записывали раз в неделю.

Результаты сведены ниже в Таблице 9 (B16F10 меланома) и Таблице 10 (MC38 карцинома толстой кишки) (средний размер опухоли ± SEM). Статистические анализы выполняли с применением GraphPad Prism 6.0. Двухфакторный анализ ANOVA применяли для сравнения статистических различий между несколькими группами относительно группы изотипического контроля или других экспериментальных групп. $P < 0,05$ рассматривали как существенное различие. Опухоль измеряют в мм³.

Таблица 9. Изменения размеров опухоли подкожной меланомы B16F10 со временем

Группа 1. Изотипический контроль			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
12	74	11	8
15	214	46	8
18	392	67	8
22	1015	204	8
25	1897	310	8
29	2233	249	8
32	2311	228	8
Группа 2. Антитело против 4-1BB			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N

12	73	9	8
15	282	67	8
18	413	98	8
22	742	155	8
25	1392	278	8
29	2620	518	8
32	2759	493	8
Группа 3. против ОХ40 mIgG2a антители			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм ³)	SEM	N
12	71	7	9
15	198	51	9
18	370	105	9
22	783	293	9
25	1147	283	9
29	2046	433	9
32	2576	360	9
Группа 4. Авелумаб			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм ³)	SEM	N
12	77	15	5
15	236	71	5
18	396	137	5
22	750	134	5
25	1291	210	5
29	2159	326	5
32	2352	264	5
Группа 5. Антитело против 4-1BB + антитело mIgG2a против ОХ40			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм ³)	SEM	N
12	78	14	9
15	155	23	9
18	313	50	9
22	595	87	9
25	861	65	9
29	1453	137	9
32	2003	245	9
Группа 6. антитело mIgG1 против ОХ40 + авелумаб			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм ³)	SEM	N
12	76	15	8
15	228	77	8
18	336	80	8
22	648	149	8
25	1009	248	8
29	1381	228	8
32	1908	261	8
Группа 7. Авелумаб + антитело mIgG2a против ОХ40			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм ³)	SEM	N
12	75	11	8
15	184	37	8
18	297	61	8
22	505	111	8
25	833	191	8
29	1731	392	8
32	2056	371	8

Группа 8. Авелумаб + антитело против 4-1BB			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
12	73	10	8
15	229	52	8
18	274	52	8
22	537	117	8
25	803	192	8
29	1435	305	8
32	1572	307	8
Группа 9. Авелумаб + антитело против 4-1BB + антитело mIgG1 против OX40			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
12	72	9	9
15	176	32	9
18	228	60	9
22	373	114	9
25	585	192	9
29	788	267	9
32	979	329	9
Группа 10. Авелумаб + антитело против 4-1BB + антитело mIgG2a против OX40			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
12	74	10	9
15	104	17	9
18	120	17	9
22	155	49	9
25	208	54	9
29	365	93	9
32	442	114	9

Таблица 10. Изменения размеров опухоли подкожной карциномы толстой кишки MC38 со временем

Группа 1. Изотипический контроль			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
10	85	7	9
13	162	23	9
16	305	41	9
21	696	66	9
24	1064	112	9
28	1830	214	9
Группа 2. Антитело mIgG1 против OX40			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
10	85	6	9
13	160	15	9
16	280	28	9
21	751	79	9
24	1238	139	9
28	2223	270	9
Группа 3. Антитело mIgG2a против OX40			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
10	85	7	9
13	154	11	9

16	247	18	9
21	455	64	9
24	648	102	9
28	1053	181	9
Группа 4. Антитело против 4-1BB			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
10	84	7	8
13	161	11	8
16	264	19	8
21	585	37	8
24	909	65	8
28	1494	129	8
Группа 5. Антитело mIgG1 против OX40 + антитело против 4-1BB			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
10	85	7	9
13	171	11	9
16	246	20	9
21	492	27	9
24	737	62	9
28	1241	217	9
Группа 6. Антитело mIgG2a против OX40 + антитело против 4-1BB			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
10	85	7	8
13	175	15	8
16	248	29	8
21	387	74	8
24	567	119	8
28	854	163	8
Группа 7. Антитело против 4-1BB + авелумаб			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
10	85	6	9
13	152	8	9
16	195	27	9
21	349	89	9
24	573	157	9
28	1026	255	9
Группа 8. Антитело mIgG1 против OX40 + антитело против 4-1BB + авелумаб			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
10	85	6	9
13	167	12	9
16	170	32	9
21	228	65	9
24	304	86	9
28	448	108	9
Группа 9. Антитело mIgG2a против OX40 + антитело против 4-1BB + авелумаб			
Дни после инокуляции опухоли	Средний размер опухоли (мм³)	SEM	N
10	85	6	9
13	153	17	9
16	127	23	9
21	116	37	9
24	165	67	9
28	260	107	9

Использовали две мышинных модели для оценки терапевтической эффективности тройного комбинированного лечения с применением антитела против OX40, антитела

против 4-1BB и авелумаба. В модели меланомы B16F10 средний размер опухоли в начале лечения составлял 71-78 мм³ (Таблица 9). На 32-й день после инокуляции опухолей опухоли у животных в группах, подвергавшихся лечению с применением изотипического контроля, только антитела против 4-1BB, только авелумаба, только антитела mIgG2a против ОХ40 и антитела mIgG1 против ОХ40 плюс авелумаб, были либо очень близки к показателю 2000 мм³, либо превышали его; они составляли 2311±228 мм³, 2759±493 мм³, 2352±264 мм³, 2576±360 мм³ и 1908±261 мм³, соответственно. Лечение животных с применением антитела против 4-1BB плюс антитело mIgG2a против ОХ40, антитела mIgG2a против ОХ40 плюс авелумаб или антитела против 4-1BB плюс авелумаб обеспечивали лучшую эффективность лечения на 25-й день по сравнению с животными, получавшими изотипический контроль; однако различие в размере опухоли становилось незначительным на 32-й день. Для сравнения, заметное подавление опухоли наблюдалось при одновременном введении животным авелумаба, антитела против 4-1BB и антитела mIgG1 против ОХ40 (Таблица 9, Группа 9) или одновременном введении авелумаба, антитела против 4-1BB и антитела mIgG2a против ОХ40 (Таблица 9, Группа 10). Объем опухолей составлял 979±329 мм³ (Таблица 9, Группа 9; p<0,001 по сравнению с группами, получавшими изотипический контроль и только один агент) и 442±114 мм³ (Таблица 9, Группа 10; p<0,00001 по сравнению с группами, получавшими изотипический контроль и только один агент), соответственно. В случае тройной комбинации с применением антитела против 4-1BB, антитела mIgG2a против ОХ40 и авелумаба результат также был значительно лучше, чем в группах с применением двойной комбинации (p<0,01) (Таблица 9).

В модели карциномы толстой кишки MC38 средний размер опухоли в начале лечения составлял 84-85 мм³. На 28-й день после имплантации опухолей опухоли у животных, подвергавшихся лечению с применением антителом mIgG2a против ОХ40 (Таблица 10, Группа 3), антителом mIgG1 против ОХ40 плюс антитело против 4-1BB (Таблица 10, Группа 5), антителом mIgG2a против ОХ40 плюс антитело против 4-1BB (Таблица 10, Группа 6) или антителом против 4-1BB плюс авелумаб (Таблица 10, Группа 7) имели размеры 1053±181 мм³, 1241±217 мм³, 854±163 мм³ и 1026±255 мм³, соответственно, которые являются значительно меньшими, чем в группе, получавшей изотипический контроль (1830±214 мм³) (p<0,001) (Таблица 10, Группа 1). Лечение только антителом mIgG1 против ОХ40 (Таблица 10, Группа 2) или только антителом против 4-1BB (Таблица 10, Группа 4) не подавляло рост опухоли. Для сравнения, лечение с применением тройной комбинации антитела против 4-1BB и авелумаба с антителом mIgG1 против ОХ40 (Таблица 10, Группа 8) или антителом mIgG2a против ОХ40 (Таблица 10, Группа 9) значительно подавляло рост опухоли, причем средний размер опухоли составлял 448±108 мм³ и 260±107 мм³, соответственно. В обоих случаях это существенно не только по сравнению с изотипической контрольной группой (p<0,0001), а обе тройные комбинации также были значительно лучше, чем любая из двойных комбинаций (p<0,001) (Таблица 10).

Эти результаты демонстрируют, что лечение с применением тройной комбинации антитела против 4-1BB, авелумаба и антитела против ОХ40 является более эффективным при лечении рака по сравнению с одним антителом или двойным комбинированным лечением с применением антител.

Пример 7: Комбинированное лечение рецидивной или рефрактерной (R/R) диффузной

крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBCL) с применением авелумаба в комбинации с антителом против 4-1BB, азациитидина, антагонистического антитела против CD20 и/или традиционной химиотерапии (бендамустин).

В этом примере исследования поясняются три режима лечения:

- 5 - Авелумаб в комбинации с ритуксимабом и PF-05082566 для лечения пациентов с рецидивной или рефрактерной DLBCL
- Авелумаб в комбинации с азациитидином и PF-05082566 для лечения пациентов с рецидивной или рефрактерной DLBCL
- Авелумаб в комбинации с ритуксимабом и бендамустином показан для лечения
- 10 пациентов с рецидивной или рефрактерной DLBCL

Целевая популяция для исследования состоит из пациентов с R/R DLBCL, определяемых следующим образом: (i) пациенты с R/R DLBCL после по меньшей мере 2-х безуспешных линий (и не более 4-х линий) предшествующего лечения ритуксимабом / полихимиотерапия и/или (II) безуспешной ASCT или (iii) не являющиеся кандидатами

15 для ASCT (отказ или отсутствие донора), или (iv) не являющиеся кандидатами для интенсивной химиотерапии второй линии.

Согласно действующим нормам, установленным Национальной всеобщей онкологической сетью (NCCN Guidelines) (версия 1.2016) для DLBCL, рекомендуется лечение ритуксимабом, циклофосфамидом, доксорубицином, винкристином и

20 преднизоном (R-CHOP) для пациентов с впервые диагностированной болезнью на всех стадиях болезни или мини-CHOP у пациентов старше 80 лет с сопутствующими заболеваниями. Приблизительно 60% пациентов с DLBCL надеются на излечение после лечения R-CHOP. Однако от тридцати до 50% пациентов с запущенной болезнью имеют болезнь, которая является либо первичной рефрактерной (~15%), либо резистентной

25 (~25%) к R-CHOP (NCCN Guidelines, 2016; Sehn & Gascoyne, 2015; Vacirca et al, 2014).

Высокодозированная химиотерапия с последующей ASCT обеспечивает наилучшие шансы на излечение пациентов с R/R DLBCL в условиях второй линии; однако из-за преклонного возраста и/или сопутствующих заболеваний лишь приблизительно 50% пациентов, для которых первая линия R-CHOP была безуспешной, отвечают требованиям

30 для высокодозированной химиотерапии, и из них лишь приблизительно ~50% страдают от хемочувствительной болезни в условиях второй линии и отвечают требованиям для ASCT (Sehn & Gascoyne, 2015). Даже если они отвечают требованиям для высокодозированной химиотерапии, пациенты могут отказаться от ASCT, может отсутствовать донор для них, или они могут быть не допущены из-за различных

35 сопутствующих заболеваний. Даже среди пациентов, подвергнутых высокодозированной химиотерапии с последующей ASCT, излечивается лишь меньшинство (<10%).

Согласно действующим нормам NCCN (версия 1.2016), рекомендуются следующие режимы химиотерапии с содержанием ритуксимаба для спасительной терапии второй линии и дальнейшего применения для пациентов, которые не отвечают требованиям

40 для высокодозированной химиотерапии и ASCT: бендамустин ± ритуксимаб, брентуксимаб, циклофосфамид / этопозид/ прокарбазин / преднизон (CEPP), циклофосфамид / этопозид/ винкристин / преднизон (СБОР), этопозид с подбором дозы, преднизон, винкристин, циклофосфамид и доксорубицин (DA-EPOCH) ± ритуксимаб, гемцитабин, дексаметазон и цисплатин (GDP) ± ритуксимаб, гемцитабин / оксалиплатин

45 ± ритуксимаб, леналидомид ± ритуксимаб и ритуксимаб (NCCN Guidelines, 2016).

Исход у пациентов, для которых лечение с применением R-CHOP оказалось безуспешным, и которые не отвечают требованиям для высокодозированной химиотерапии или ASCT, является неблагоприятным, со средней выживаемостью без

прогрессирования (PFS) 3,6 месяца (Vacirca et al, 2014). Возможности лечения для таких пациентов остаются очень ограниченными, и, таким образом, для пациентов с R/R DLBCL существует высокая неудовлетворенная потребность в разработке более эффективных методов спасительной терапии, продлевающих PFS и общую выживаемость (OS).

Предлагаемое исследование представляет собой многоцентровое международное выполняемое в параллельных группах рандомизированное открытое двухкомпонентное (Фаза 1b с последующей Фазой 3) исследование авелумаба в различных комбинациях для лечения R/R DLBCL. Испытание охватывает следующие лекарственные средства:

(i) PF-05082566, новое, полностью человеческое моноклональное агонистическое антитело IgG2 против 4-1BB,

(ii) Азациитидин, ингибитор ДНК-метилтрансферазы (DNMTi) и эпигенетический агент, который продемонстрировал потенциальную иммунопримирующую активность через различные механизмы, включая индукцию PD-1 на инфильтрирующих опухолях лимфоцитах (TIL) и PD-L1 на опухолевых клетках, а также индукцию экспрессии опухолевого неоантигена,

(iii) Ритуксимаб, антагонистическое антитело против CD20, и

(iv) Бендамустин, алкилирующий химиотерапевтический агент, являющийся одним из рекомендуемых Национальной всеобщей онкологической сетью (NCCN) средств спасительной терапии для пациентов с DLBCL, которые не отвечают требованиям для высокодозированной химиотерапии и трансплантации аутологичных стволовых клеток (ASCT).

Режимы лечения, предлагаемые в исследовании, включают комбинации авелумаба с:

(i) Ритуксимабом и PF-05082566

(ii) Азациитидином и PF-05082566 и

(iii) Ритуксимабом и бендамустином.

В Фазе 3 пациентов на рандомизированной основе распределяли в соотношении 1:1 по группам, к которым применяли режим лечения, выбранный в Фазе 1b, и выбранный исследователем стандарт лечения (SOC), чтобы определить, превосходит ли выбранный режим лечения выбранный исследователем стандарт лечения в отношении продления выживаемости без прогрессирования (PFS).

Целевая популяция этого регистрационного исследования Фазы 1b / Фазы 3 охватывает пациентов с R/R DLBCL, которые прошли по меньшей мере 2 (но не более 4-х) линий предшествующего лечения ритуксимабом / полихимиотерапии, или для которых ASCT оказалась безуспешной, или не являющиеся кандидатами для ASCT, или которые не отвечают требованиям для интенсивной химиотерапии. В исследовании изучается безопасность, эффективность, фармакокинетика (РК), иммуногенность и сообщаемые пациентом результаты.

Первичная цель компонента Фазы 1b состоит в предварительной оценке безопасности каждого комбинированного режима. Каждая группа без значительных опасных показателей среди первых 6 пациентов затем расширяется до общего количества 28 пациентов на группу с целью выбора режима лечения для перехода к компоненту Фазы 3 исследования. Это решение принимается на основе наблюдаемой исследователем частоты объективного ответа (ORR) и профиля безопасности каждого комбинированного режима. Комбинированные режимы, оцениваемые в компоненте Фазы 1b исследования в 28-дневных циклах включают:

Группа А: Авелумаб / ритуксимаб / PF-05082566 (4-1BB)

(i) Ритуксимаб 375 мг/м² (IV) утром в 1-й день каждого 28-дневного цикла. Ритуксимаб вводят в течение не более 8 циклов.

Ритуксимаб вводят по меньшей мере за 3 часа до PF-05082566 при введении дозы в тот же день.

(ii) PF-05082566 в фиксированной дозе 100 мг (IV) утром на 2-й день Циклов 1 и 2 каждого 28-дневного цикла. Если PF-05082566 хорошо переносится в Циклах 1 и 2, возможно введение PF-05082566 в 1-й день в Цикле 3 (и всех последующих циклах).

PF-05082566 вводят по меньшей мере за 3 часа до авелумаба в Цикле 1. Если PF-05082566 хорошо переносится в Цикле 1, в Цикле 2 и всех последующих циклах, окно между введением доз PF-05082566 и авелумаба может быть уменьшено с по меньшей мере 3 часов до 30-60 минут.

(iii) Авелумаб, 10 мг/кг (IV) каждый 2-й и 16-й дни каждого 28-дневного цикла в Цикле 1 и Цикле 2. Если авелумаб хорошо переносится в Цикле 1 и 2, введение авелумаба возможно в 1-й день и 15-й день в Цикле 3 (и всех последующих циклах).

Авелумаб вводят по меньшей мере через 3 часа после PF-05082566 в Цикле 1 и Цикле 2. Если авелумаб хорошо переносится на 2-й день в Цикле 1, на 2-й день в Цикле 2 и в последующих циклах, окно между введением доз авелумаба и PF-05082566 может быть уменьшено с по меньшей мере 3 часов до 30-60 минут.

Группа В: Авелумаб / азацитидин / PF-05082566 (4-1BB)

(i) Азацитидин, 75 мг/м² (SC) последовательно утром в 1-й - 7-й дни каждого 28-дневного цикла. Азацитидин вводят в течение не более 6 циклов.

Азацитидин вводят по меньшей мере за 3 часа до PF-05082566 при введении дозы в тот же день.

(ii) PF-05082566 в фиксированной дозе 100 мг (IV) утром на 2-й день Цикла 1 и Цикла 2 каждого 28-дневного цикла. Если PF-05082566 хорошо переносится в Цикле 1 и 2, PF-05082566 вводят в 1-й день, начиная с Цикла 3 (и в последующих циклах).

PF-05082566 должен вводиться по меньшей мере за 3 часа до введения авелумаба. Если PF-05082566 хорошо переносится в Цикле 1, в Цикле 2 и всех последующих циклах, окно между введением доз PF-05082566 и авелумаба может быть уменьшено с по меньшей мере 3 часов до 30-60 минут.

(iii) Авелумаб, 10 мг/кг (IV) каждый 2-й и 16-й дни каждого 28-дневного цикла в Цикле 1 и Цикле 2. Если авелумаб хорошо переносится в Цикле 1 и 2, авелумаб вводят в 1-й день и 15-й день в Цикле 3 (и всех последующих циклах).

Введение авелумаба осуществляют по меньшей мере через 3 часа после PF-05082566 в Цикле 1 и Цикле 2. Если авелумаб хорошо переносится на 2-й день в Цикле 1, на 2-й день в Цикле 2 и в последующих циклах, окно между введением доз авелумаба и PF-05082566 может быть уменьшено с по меньшей мере 3 часов до 30-60 минут.

Группа С: Авелумаб / бендамустин / ритуксимаб

(i) Ритуксимаб, 375 мг/м² (IV) утром в 1-й день каждого 28-дневного цикла. Ритуксимаб вводят в течение не более 8 циклов.

(ii) Бендамустин, 90 мг/м² (IV) на 2-й день и 3-й день каждого 28-дневного цикла в Цикле 1 и Цикле 2. Если бендамустин хорошо переносится в Цикле 1 и 2, бендамустин вводят в 1-й день и 2-й день в Цикле 3 (и всех последующих циклах). Бендамустин вводят в течение не более 6 циклов.

(iii) Авелумаб, 10 мг/кг (IV) каждый 2-й и 16-й дни каждого 28-дневного цикла в Цикле 1 и Цикле 2. Если авелумаб хорошо переносится в Цикле 1 и 2, авелумаб вводят в 1-й день и 15-й день в Цикле 3 (и всех последующих циклах). Введение авелумаба

должно осуществляться по меньшей мере через 3 часа после бендамустина.

В Фазе 3 (N=220) первичная цель состоит в демонстрации преимущества по PFS (согласно независимой центральной оценке в слепом режиме [BICR]) комбинированного режима, которое определяется в Фазе 1b, по сравнению с лечением с применением контроля, то есть, выбранной исследователем химиотерапии в качестве SOC (включающей ритуксимаб / бендамустин или ритуксимаб / гемцитабин / оксалиплатин).

В компоненте Фазы 3 исследования должны оцениваться следующие режимы лечения, причем все варианты лечения применяются в 28-дневных циклах:

Группа D (N=110): режим, выбранный из Фазы 1b

Группой D является одна из групп, к которым применяли режимы лечения, оцениваемые в Фазе 1b, т.е., Группа А, В или С, выбранная на основе оценок безопасности и эффективности.

Когорта Е (N=110): Выбор исследователя между следующими режимами в качестве стандарта лечения:

(i) Ритуксимаб / бендамустин

- Ритуксимаб, 375 мг/м² IV в 1-й день

- Бендамустин, 120 мг/м² IV в 1-й и 2-й дни

(ii) Ритуксимаб / гемцитабин / оксалиплатин

- Ритуксимаб, 375 мг/м² IV в 1-й день

- Гемцитабин, 1000 мг/м² внутривенно на 2-й день и 17-й дни

- Оксалиплатин, 100 мг/м² внутривенно на 2-й день и 17-й дни

Пример 8: Комбинированное лечение пациентов с запущенными злокачественными опухолями, у которых обнаружено прогрессирование болезни после ингибитора контрольной точки иммунного ответа с применением авелумаба в комбинации с антителом против 4-1BB.

Этот пример иллюстрирует исследование Фазы 2 для оценки безопасности и эффективности авелумаба (MSB0010718C) в комбинации с агонистическим антителом против 4-1BB PF-05082566 у пациентов с запущенной стадией NSCLC, RCC или уротелиального рака (UC), у которых обнаружено прогрессирование болезни после предшествующей терапии, включая ингибитор контрольной точки иммунного ответа в качестве монотерапии.

Цель этого исследования состоит в оценке частоты объективных ответов (ORR) на основе RECIST 1.1 авелумаба плюс PF-05082566. Пациенты должны иметь запущенную форму NSCLC, RCC или уротелиального рака, которая была резистентной (ответ с последующим прогрессированием) или рефрактерной (без ответа) к ранее применявшимся способам терапии, включая ингибитор контрольной точки иммунного ответа в качестве монотерапии (например, анти-PD-1 / анти-PD-L1 или анти-CTLA-4).

Авелумаб вводят путем однократной внутривенной инфузии каждые 2 недели в дозе 10 мг/кг во всех трех когортах. PF-05082566 вводят в количестве 100 мг в форме 1-часовой внутривенной инфузии раз в 4 недели в 1-й день каждого цикла.

В дни, когда вводятся оба медикамента, PF 05082566 вводят первым, с последующей инфузией авелумаба не более, чем через 30 минут после окончания инфузии PF-05082566.

Введение доз продолжают до подтверждения исследователем прогрессирования болезни, отказа пациента, неприемлемой токсичности, потери связи с пациентом для дальнейшего наблюдения или прекращения исследования со стороны спонсора, в зависимости от более раннего события.

Комбинацию авелумаба плюс антитело против 4-1BB PF-05082566 и антитело против

ОХ40 PF-04518600 оценивали на высвобождение цитокинов с применением стандартного *in vitro* исследования РВМС человека. Анализ Высвобождения цитокинов выполняли для PF-05082566 отдельно и в комбинации с авелумабом и PF-04518600. Результаты для антитела PF-05082566 в отдельности не демонстрировали значительного повышения высвобождения цитокинов. Кроме того, не наблюдалось аддитивного воздействия на высвобождение цитокинов при комбинации трех моноклональных антител.

Оценка ORR является первичной целью любой потенциальной оценки авелумаба в комбинации с иммунотерапией, отличной от PF-05082566. В каждом случае ORR оценивают со всей совокупностью данных для возможного расширения когорты или испытания нескольких типов опухолей и/или других комбинированных иммунотерапевтических средств.

Пример 9: Фаза 3 рандомизированного исследования авелумаба (MSB0010718Q в комбинации с химиорадиотерапией в качестве стандарта лечения (цисплатин и радикальная лучевая терапия) в сравнении с химиорадиотерапией в качестве стандарта лечения в лечении первой линии для пациентов с местнораспространенной плоскоклеточной карциномой головы и шеи.

Этот пример иллюстрирует Фазу 3 многоцентрового многонационального рандомизированного плацебо-контролируемого исследования авелумаба (MSB0010718C) в комбинации с химиорадиотерапией в качестве стандарта лечения (SOC) (цисплатин и радикальная лучевая терапия) в сравнении с химиотерапией в качестве SOC для лечения первой линии для пациентов с местнораспространенной плоскоклеточной карциномой головы и шеи.

Приблизительно 640 пациентов, ранее не подвергавшихся терапии для лечения SCCHN (ротовая полость, ротоглотка, глотка или гортаноглотка) HPV-: Стадия III, IVa или IVb, или HPV+: T4 или N3, которые отвечают требованиям для радикальной химиорадиотерапии с применением цисплатина, на рандомизированной основе разбиваются в соотношении 1:1 на подгруппы для лечения авелумабом + SOC-химиорадиотерапия в сравнении с плацебо + химиорадиотерапия с последующей поддерживающей терапией с применением авелумаба или плацебо в течение периода до 1 года. Пациентов разбивают на группы в зависимости от:

- Стадии опухоли (T) (<T4 или T4);
- Узловой (N) стадии (NO или N1/N2a/N2b или N2c/N3)

Оценку опухоли осуществляют каждые 12 недель после завершения радикальной химиорадиотерапии в течение 2 лет, а затем каждые 16 недель.

Независимый комитет по центральной оценке в слепом режиме (BICR) проверяет оценку опухоли дополнительно к проверке со стороны исследователя.

Если исследуемое лечение прекращается по причинам, не связанным с прогрессированием болезни (PD), отзыва согласия или смерти пациента, за пациентами ведется наблюдение и оценка опухолей выполняется каждые 12 недель до следующих событий: 1) PD, 2) смерти, 3) отмены пациентом согласия на участие в исследовании или 4) по прошествии 2 лет после завершения химиорадиотерапии, после чего оценка опухолей может проводиться каждые 16 недель, в зависимости от более раннего события.

Группа А: Авелумаб (MSB0010718C) + SOC-химиорадиотерапия (CRT).

В этом исследовании вводная фаза начинается за семь дней до начала фазы CRT. Поддерживающую фазу начинают после завершения фазы CRT (т.е., через две недели после завершения CRT).

- Цисплатин, 100 мг/м² в 1, 22, 43-й дни. Вводят в 500 мл нормального солевого раствора путем 60-120-минутной инфузии с дополнительными от 1 до 1,5 л жидкости,

которые вводят после гидратации.

- Лучевая терапия (RT) 70 Гр/33-35 фракций/день, 5 фракций/неделю, лучевая терапия с модулированной интенсивностью (IMRT)

- Авелумаб: 10 мг/кг, введение в 1-й день вводной фазы и на 8, 29 и 39-й дни фазы CRT и впоследствии каждые 2 недели (Q2W) в течение периода до 12 месяцев.

Группа В: SOC-химиорадиотерапия.

- Цисплатин, 100 мг/м² в 1, 22 и 43-й дни

- RT 70 Гр/33-35 фракций/день, 5 фракций/неделю, IMRT

- Плацебо: 1-й день вводной фазы, 8, 29, 39-й дни фазы CRT и раз в 2 недели в дальнейшем в течение периода до 12 месяцев.

Авелумаб и плацебо вводят путем внутривенной инфузии.

Пациенты получают исследуемое лечение до следующих событий: 1) 12 месяцев после начала поддерживающей терапии (завершения интервенционного исследования), 2) PD 3) смерти, 4) отзыва согласия пациентом, 5) потери связи с пациентом для дальнейшего наблюдения, 6) неприемлемой токсичности или 7) прекращения исследования со стороны спонсора, в зависимости от более раннего события.

Доза цисплатина может быть изменена на 22-й и/или 43-й дни из-за токсичности следующим образом: начальный уровень дозы составляет 100 мг/м², уровень дозы -1 составляет 75 мг/м², и уровень дозы -2 составляет 50 мг/м².

Периферическая кровь и дополнительные биомаркеры опухолевой ткани, состоящие из уровня клеток, дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), рибонуклеиновой кислоты (РНК) или белков, которые могут быть связаны с противоопухолевым иммунным ответом и/или ответом на прогрессирование болезни после приема авелумаба, такие, как гены, связанные с IFN-γ или трансформирующим фактором роста (TGF)-β.

Пример 10: Фаза 1b исследования по подбору дозы авелумаба (MSB0010718C; анти-PD-L1) + акситиниб у ранее не подвергавшихся лечению пациентов с запущенной почечноклеточной карциномой.

Этот пример иллюстрирует результаты исследования, описанного выше в Примере 1. Отвечающие требованиям пациенты имеют гистологически подтвержденную aRCC со светлоклеточным компонентом, резекцию первичной опухоли, ≥1 измеримого поражения, биопсию архивной / свежей опухоли, ECOG PS≤1, не имеют предшествующей неконтролируемой гипертонии и не подвергались системной терапии aRCC. Для определения изменений доз для будущих когорт применяли правила увеличения / уменьшения дозы согласно способу интервала вероятности модифицированной токсичности. Неблагоприятные явления (АЕ) классифицировали по NCI CTCAE v4. Определяли частоту объективных ответов (ORR; RECIST v1.1).

Начальная доза авелумаба, 10 мг/кг (1 ч IV инфузия) раз в 2 недели + акситиниб, 5 мг PO BID, отвечала критериям MTD. На 5 апреля 2016 г. 6 пациентов (средний возраст 59,5 [от 45 до 73]) прошли лечение с применением авелумаба в среднем в течение 17,0 недель (от 11,9 до 21,7) и акситиниба в течение 16,3 недели (от 12,7 до 22,7). Отмечен один случай дозолимитирующей токсичности (DLT) протеинурии 3-й степени. Наиболее частыми связанными с лечением (TR) АЕ любой степени были дисфония (n=4), гипертония (n=4), усталость (n=3) и головная боль (n=3). К TRAE 3-4 степени относились гипертония (n=2), синдром "кисть-стопа" (n=1), повышенная липаза (n=1) и протеинурия (n=1). Подтвержденная ORR составляет 83,3% (95% CI: 35,9, 99,6) на основе 5 PR и стабильное заболевание у одного пациента.

В качестве MTD/RP2D для этой фазы расширения и дальнейших исследований aRCC

были подтверждены авелумаб, 10 мг/кг IV раз в 2 недели + акситиниб, 5 мг PO BID непрерывно. Этот режим продемонстрировал предварительную противоопухолевую активность у ранее не подвергавшихся лечению пациентов с aRCC. Набор в расширенную когорту продолжается. Эти результаты демонстрируют эффективность и безопасность авелумаба + акситиниба по сравнению с применяемыми в настоящее время монотерапевтическими средствами при aRCC.

Хотя раскрываемые принципы были описаны со ссылкой на разные примеры применения, способы, комплекты и композиции, следует понимать, что существует возможность различных изменений и модификаций без отклонения от представленных в описании принципов и представленной ниже формулы изобретения. Описанные выше примеры представлены для лучшего пояснения раскрываемых принципов, но не с целью ограничения объема представленных авторами принципов. Хотя представленные принципы были описаны с точки зрения этих типичных вариантов осуществления, специалисту в данной области легко станет понятно, что существует возможность многочисленных видоизменений и модификаций этих типичных вариантов осуществления без излишних экспериментов. Все эти видоизменения и модификации охватываются объемом представленных принципов.

Все приведенные авторами ссылки на источники, включая патенты, патентные заявки, документы, пособия и т.п., а также ссылки на приведенные в них источники, включаются в это описание путем ссылки в их полном объеме, если еще не были включены ранее. В случае, если один или несколько из включенных литературных и подобных материалов отличаются или противоречат этой заявке, включая, помимо прочего, определяемые термины, применение терминов, описываемые принципы и т.п., настоящая заявка имеет приоритетную силу.

Выше в описании и Примерах подробно представлены конкретные варианты осуществления изобретения и описывается оптимальный режим, предусмотренный авторами изобретения. Однако следует понимать, что, несмотря на подробность вышеизложенного в тексте, изобретение может быть осуществлено на практике многими способами, и его следует истолковывать в соответствии с прилагаемой формулой изобретения и любыми ее эквивалентами.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> МЕРК ПАТЕНТ ГМБХ;
ПФАЙЗЕР, ИНК.

<120> КОМБИНИРОВАННЫЕ СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ АНТАГОНИСТАМИ PD-L1

<130> PC72214A

<150> 62/180,543

<151> 2015-06-16

<150> 62/219,995

<151> 2015-09-17

<150> 62/286,501

<151> 2016-01-25

<150> 62/337,489

<151> 2016-05-17

<160> 41

<170> PatentIn версия 3.5

<210> 1

<211> 290

<212> белок

<213> homo sapiens

<400> 1

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu

1 5 10 15

5 Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr

20 25 30

Gly Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu

35 40 45

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile

10 50 55 60

Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser

65 70 75 80

Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn

85 90 95

15 Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr

100 105 110

Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val

115 120 125

Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val

20 130 135 140

Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr

145 150 155 160

Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser

165 170 175

25 Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn

180 185 190

Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr

195 200 205

Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu

30 210 215 220

Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His

225 230 235 240

Leu Val Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr

245 250 255

35 Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys

260 265 270

Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu

275 280 285

Glu Thr

40 290

<210> 2

<211> 5

<212> белок

<213> homo sapiens

45 <400> 2

Ser Tyr Ile Met Met

1 5

<210> 3

<211> 11
 <212> белок
 <213> homo sapiens
 <400> 3
 5 Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr
 1 5 10
 <210> 4
 <211> 11
 <212> белок
 10 <213> homo sapiens
 <400> 4
 Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 5
 15 <211> 14
 <212> белок
 <213> homo sapiens
 <400> 5
 Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
 20 1 5 10
 <210> 6
 <211> 7
 <212> белок
 <213> homo sapiens
 25 <400> 6
 Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser
 1 5
 <210> 7
 <211> 10
 30 <212> белок
 <213> homo sapiens
 <400> 7
 Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Arg Val
 1 5 10
 35 <210> 8
 <211> 118
 <212> белок
 <213> homo sapiens
 <400> 8
 40 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ile Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 45 Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr Ala Asp Lys Gly
 50 55 60
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln

RU 2 766 890 C2

65 70 75 80
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
85 90 95
Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
5 100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115
<210> 9
<211> 110
10 <212> белок
<213> Homo sapiens
<400> 9
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
15 Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
20 50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
85 90 95
25 Ser Thr Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110
<210> 10
<211> 450
<212> белок
30 <213> Homo sapiens
<400> 10
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
35 20 25 30
Ile Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60
40 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln
45 100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

RU 2766 890 C2

	130		135		140												
	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	
	145					150					155					160	
	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	
5				165						170						175	
	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	
				180					185					190			
	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	
				195					200					205			
10	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	
	210						215				220						
	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	
	225				230					235						240	
	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	
15				245					250						255		
	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	
				260					265						270		
	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	
				275				280				285					
20	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	
	290						295				300						
	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	
	305				310					315						320	
	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	
25				325					330						335		
	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	
				340				345						350			
	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	
				355			360					365					
30	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	
	370					375					380						
	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	
	385				390					395						400	
	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	
35				405					410						415		
	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	
				420				425				430					
	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	
				435			440				445						
40	Gly	Lys															
	450																
	<210>	11															
	<211>	216															
	<212>	белок															
45	<213>	Homo sapiens															
	<400>	11															
	Gln	Ser	Ala	Leu	Thr	Gln	Pro	Ala	Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Pro	Gly	Gln	
	1			5					10					15			

RU 2 766 890 C2

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
5 Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
10 85 90 95
Ser Thr Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110
Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125
15 Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
145 150 155 160
Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
20 165 170 175
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205
25 Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215
<210> 12
<211> 6
<212> белок
30 <213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Последовательность гуманизированного антитела
<400> 12
Ser Thr Tyr Trp Ile Ser
35 1 5
<210> 13
<211> 17
<212> белок
<213> Искусственная последовательность
40 <220>
<223> Последовательность гуманизированного антитела
<400> 13
Lys Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15
45 Gly
<210> 14
<211> 8
<212> белок

<213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Последовательность гуманизированного антитела
 <400> 14
 5 Arg Gly Tyr Gly Ile Phe Asp Tyr
 1 5
 <210> 15
 <211> 11
 <212> белок
 10 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Последовательность гуманизированного антитела
 <400> 15
 Ser Gly Asp Asn Ile Gly Asp Gln Tyr Ala His
 15 1 5 10
 <210> 16
 <211> 7
 <212> белок
 <213> Искусственная последовательность
 20 <220>
 <223> Последовательность гуманизированного антитела
 <400> 16
 Gln Asp Lys Asn Arg Pro Ser
 1 5
 25 <210> 17
 <211> 11
 <212> белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 30 <223> Последовательность гуманизированного антитела
 <400> 17
 Ala Thr Tyr Thr Gly Phe Gly Ser Leu Ala Val
 1 5 10
 <210> 18
 35 <211> 116
 <212> белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Последовательность гуманизированного антитела
 40 <400> 18
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 45 Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Lys Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe
 50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
5 Ala Arg Gly Tyr Gly Ile Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115
<210> 19
10 <211> 108
<212> белок
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Последовательность гуманизированного антитела
15 <400> 19
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Asp Gln Tyr Ala
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Gln Asp Lys Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
25 65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Tyr Thr Gly Phe Gly Ser Leu
85 90 95
Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105
30 <210> 20
<211> 442
<212> белок
<213> Искусственная последовательность
<220>
35 <223> Последовательность гуманизированного антитела
<400> 20
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Ser Thr Tyr
40 20 25 30
Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Lys Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
45 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

RU 2 766 890 C2

	Ala	Arg	Gly	Tyr	Gly	Ile	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
					100				105					110		
	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala
					115				120					125		
5	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
					130				135					140		
	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
	145					150					155					160
	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
10					165					170					175	
	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe
					180					185					190	
	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
					195				200					205		
15	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro
					210				215				220			
	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
	225					230					235					240
	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
20					245					250					255	
	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp
					260					265					270	
	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
					275				280					285		
25	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val
					290				295				300			
	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
	305					310					315					320
	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly
30					325					330					335	
	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
					340					345					350	
	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
					355				360					365		
35	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
					370				375				380			
	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
	385					390					395					400
	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
40					405					410					415	
	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
					420					425					430	
	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
					435					440						
45	<210>	21														
	<211>	214														
	<212>	белок														
	<213>	Искусственная последовательность														

<220>

<223> Последовательность гуманизированного антитела

<400> 21

5 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Asp Gln Tyr Ala
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45
 10 Gln Asp Lys Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
 65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Tyr Thr Gly Phe Gly Ser Leu
 15 85 90 95
 Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
 100 105 110
 Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
 115 120 125
 20 Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
 130 135 140
 Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
 145 150 155 160
 Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
 25 165 170 175
 Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
 180 185 190
 Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
 195 200 205
 30 Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210

<210> 22

<211> 466

<212> белок

35 <213> Homo sapiens

<400> 22

Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly
 1 5 10 15
 Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 40 20 25 30
 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45
 Ser Ser Phe Ser Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 45 Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Arg Ser Ser Thr Ile Ser Tyr Ala
 65 70 75 80
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95

RU 2 766 890 C2

	Ser	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Asp	Glu	Asp	Thr	Ala	Val
				100					105					110		
	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Asp	Pro	Leu	Leu	Ala	Gly	Ala	Thr	Phe	Phe	Asp
			115					120					125			
5	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys
		130					135					140				
	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu
	145					150				155						160
	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro
10					165					170					175	
	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr
				180					185					190		
	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val
			195					200					205			
15	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn
		210					215					220				
	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg
	225					230					235					240
	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly
20					245					250					255	
	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile
				260					265					270		
	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu
		275					280					285				
25	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
		290					295					300				
	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg
	305					310					315					320
	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys
30					325					330					335	
	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu
			340						345					350		
	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr
		355					360						365			
35	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu
		370					375					380				
	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp
	385					390				395						400
	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met
40					405					410					415	
	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp
				420					425					430		
	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His
			435					440					445			
45	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro
		450					455					460				
	Gly	Lys														
	465															

<210> 23
 <211> 235
 <212> белок
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 23
 Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15
 Asp Thr Thr Gly Glu Phe Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
 20 25 30
 10 Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
 35 40 45
 Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
 50 55 60
 Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro
 15 65 70 75 80
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 85 90 95
 Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
 100 105 110
 20 Gly Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 115 120 125
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 130 135 140
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 25 145 150 155 160
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 165 170 175
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 180 185 190
 30 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 195 200 205
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 210 215 220
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 35 225 230 235
 <210> 24
 <211> 5
 <212> белок
 <213> Homo sapiens
 40 <400> 24
 Ser Phe Ser Met Thr
 1 5
 <210> 25
 <211> 17
 45 <212> белок
 <213> Homo sapiens
 <400> 25
 Tyr Ile Ser Ser Arg Ser Ser Thr Ile Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

	1	5	10	15
	Gly			
	<210> 26			
	<211> 12			
5	<212> белок			
	<213> Homo sapiens			
	<400> 26			
	Asp Pro Leu Leu Ala Gly Ala Thr Phe Phe Asp Tyr			
	1	5	10	
10	<210> 27			
	<211> 12			
	<212> белок			
	<213> Homo sapiens			
	<400> 27			
15	Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala			
	1	5	10	
	<210> 28			
	<211> 7			
	<212> белок			
20	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
	<223> Последовательность CDRL2 антитела MCSF			
	<400> 28			
	Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr			
25	1	5		
	<210> 29			
	<211> 9			
	<212> белок			
	<213> Homo sapiens			
30	<400> 29			
	Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr			
	1	5		
	<210> 30			
	<211> 141			
35	<212> белок			
	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
	<223> Последовательность вариабельной области тяжелой цепи антитела MCSF			
40	<400> 30			
	Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly			
	1	5	10	15
	Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln			
	20 25 30			
45	Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe			
	35 40 45			
	Ser Ser Phe Ser Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu			
	50 55 60			

RU 2 766 890 C2

Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Arg Ser Ser Thr Ile Ser Tyr Ala
 65 70 75 80
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95
 5 Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Leu Leu Ala Gly Ala Thr Phe Phe Asp
 115 120 125
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
 10 130 135 140
 <210> 31
 <211> 128
 <212> белок
 <213> Homo sapiens
 15 <400> 31
 Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15
 Asp Thr Thr Gly Glu Phe Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
 20 20 25 30
 Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
 35 40 45
 Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
 50 55 60
 Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro
 25 65 70 75 80
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 85 90 95
 Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
 100 105 110
 30 Gly Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 115 120 125
 <210> 32
 <211> 5
 <212> белок
 35 <213> Homo sapiens
 <400> 32
 Ser Tyr Ser Met Asn
 1 5
 <210> 33
 40 <211> 17
 <212> белок
 <213> Homo sapiens
 <400> 33
 Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 45 1 5 10 15
 Gly
 <210> 34
 <211> 9

<212> белок
 <213> Homo sapiens
 <400> 34
 Glu Ser Gly Trp Tyr Leu Phe Asp Tyr
 5 1 5
 <210> 35
 <211> 11
 <212> белок
 <213> Homo sapiens
 10 <400> 35
 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
 1 5 10
 <210> 36
 <211> 7
 15 <212> белок
 <213> Homo sapiens
 <400> 36
 Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
 1 5
 20 <210> 37
 <211> 9
 <212> белок
 <213> Homo sapiens
 <400> 37
 25 Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro Thr
 1 5
 <210> 38
 <211> 118
 <212> белок
 30 <213> Homo sapiens
 <400> 38
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 35 20 25 30
 Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 40 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Ser Gly Trp Tyr Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 45 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 39

<211> 107
 <212> белок
 <213> Homo sapiens
 <400> 39

5 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
 10 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 15 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 40
 20 <211> 444
 <212> белок
 <213> Homo sapiens
 <400> 40

25 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 30 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 35 85 90 95
 Ala Arg Glu Ser Gly Trp Tyr Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125
 40 Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 45 165 170 175
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser

RU 2 766 890 C2

	195		200		205
	Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys				
	210		215		220
	Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe				
5	225		230		235
	Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val				
		245		250	255
	Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe				
		260		265	270
10	Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro				
		275		280	285
	Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr				
		290		295	300
	Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val				
15	305		310		315
	Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr				
		325		330	335
	Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg				
		340		345	350
20	Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly				
		355		360	365
	Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro				
		370		375	380
	Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser				
25	385		390		395
	Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln				
		405		410	415
	Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His				
		420		425	430
30	Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys				
		435		440	
	<210> 41				
	<211> 214				
	<212> белок				
35	<213> Homo sapiens				
	<400> 41				
	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly				
	1	5		10	15
	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp				
40		20		25	30
	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile				
		35		40	45
	Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly				
		50		55	60
45	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro				
	65		70		75
	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro				
		85		90	95

	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
				100					105					110		
	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
			115					120					125			
5	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
		130					135				140					
	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
	145					150					155				160	
	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
10				165						170				175		
	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr
			180					185					190			
	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser
		195						200					205			
15	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys										
		210														

(57) Формула изобретения

1. Применение антагониста лиганда 1 белка запрограммированной гибели (PD-L1) в комбинации с ингибитором VEGFR для лечения ассоциированного с VEGFR и PD-L1 рака у субъекта, где антагонист PD-L1 представляет собой моноклональное антитело против PD-L1, включающее: три CDR в вариабельной области тяжелой цепи, имеющих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 3 и 4, и три CDR в вариабельной области легкой цепи, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5, 6 и 7, и где ингибитор VEGFR представляет собой N-метил-2-[3-((E)-2-пиридин-2-ил-винил)-1H-индазол-6-илсульфанил]-бензамид.

2. Применение по п. 1, отличающееся тем, что рак представляет собой почечноклеточную карциному.

3. Применение по любому из пп. 1 или 2, отличающееся тем, что антагонистом PD-L1 является авелумаб, а ингибитором VEGFR является акситиниб.

4. Применение по любому из пп. 1-3, отличающееся тем, что антагонист PD-L1 вводят в качестве начальной дозы по меньшей мере 5 мг/кг или 10 мг/кг; и ингибитор VEGFR вводят в качестве начальной дозы по меньшей мере 3 мг/кг или 5 мг/кг.

5. Применение по любому из пп. 1-4, где антагонист PD-L1 вводят один раз каждые две недели, а ингибитор VEGFR вводят два раза в день.

6. Применение по п. 5, отличающееся тем, что авелумаб вводят в виде 1-часовой внутривенной инфузии, а акситиниб вводят перорально.

7. Применение по п. 6, где акситиниб вводят с пищей или без нее.

8. Применение по п. 6 или 7, где акситиниб вводят по продолжительному графику дозирования.

9. Применение по любому из пп. 3-8, где акситиниб изготовлен в виде таблетки по 5 мг.

10. Применение лекарственного средства, включающего антагонист лиганда 1 белка запрограммированной гибели (PD-L1) в комбинации с ингибитором VEGFR, для лечения ассоциированного с VEGFR и PD-L1 рака у субъекта, и где антагонист PD-L1 представляет собой моноклональное антитело против PD-L1, включающее три CDR в вариабельной области тяжелой цепи, имеющих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 3 и 4, и три CDR в вариабельной области легкой цепи, имеющих

аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5, 6 и 7, а также где ингибитор VEGFR представляет собой N-метил-2-[3-(Е-2-пиридин-2-ил-винил)-1Н-индазол-6-илсульфанил]-бензамид.

11. Применение по п. 10, отличающееся тем, что антагонист PD-L1 вводят в качестве начальной дозы по меньшей мере 5 мг/кг или 10 мг/кг; и ингибитор VEGFR вводят в качестве начальной дозы по меньшей мере 3 мг/кг или 5 мг/кг.

12. Применение по п. 10 или 11, отличающееся тем, что антагонист PD-L1 вводят раз в две недели, а ингибитор VEGFR вводят дважды в день.

13. Применение лекарственного средства, включающего ингибитор VEGFR в комбинации с антагонистом лиганда 1 белка запрограммированной гибели (PD-L1), для лечения ассоциированного с VEGFR и PD-L1 рака у субъекта, где ингибитор VEGFR представляет собой N-метил-2-[3-(Е-2-пиридин-2-ил-винил)-1Н-индазол-6-илсульфанил]-бензамид, а антагонист PD-L1 представляет собой моноклональное антитело против PD-L1, включающее три CDR в вариабельной области тяжелой цепи, имеющих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 3 и 4, и три CDR в вариабельной области легкой цепи, имеющих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5, 6 и 7.

14. Применение по любому из пп. 10-13, отличающееся тем, что рак представляет собой почечноклеточную карциному.

15. Применение по любому из пп. 10-14, отличающееся тем, что антагонистом PD-L1 является авелумаб, а ингибитором VEGFR является акситиниб.

16. Применение по п. 15, отличающееся тем, что авелумаб изготовлен в форме жидкого лекарственного средства, и акситиниб изготовлен в форме 1 мг таблетки, 3 мг таблетки или 5 мг таблетки.

17. Набор для лечения ассоциированного с VEGFR и PD-L1 рака, включающий первый контейнер, второй контейнер и листок-вкладыш в упаковке, где первый контейнер включает по меньшей мере одну дозу лекарственного средства, включающего антагонист лиганда 1 белка запрограммированной гибели (PD-L1), второй контейнер включает по меньшей мере одну дозу лекарственного средства, включающего ингибитор VEGFR, и листок-вкладыш в упаковке включает инструкции по лечению субъекта с применением лекарственного средства, где антагонист PD-L1 представляет собой моноклональное антитело против PD-L1, включающее три CDR в вариабельной области тяжелой цепи, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 3 и 4, и три CDR в вариабельной области легкой цепи, имеющих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5, 6 и 7, а также где ингибитор VEGFR представляет собой N-метил-2-[3-(Е-2-пиридин-2-ил-винил)-1Н-индазол-6-илсульфанил]-бензамид.

18. Набор по п. 17, отличающийся тем, что в инструкциях указывается, что лекарственные средства предназначены для применения в лечении субъекта, страдающего от рака, который демонстрирует положительный результат теста на экспрессию PD-L1 при иммуногистохимическом анализе (ИНС).

19. Набор по п. 13 или 14, отличающийся тем, что антагонистом PD-L1 является авелумаб, изготовленный в форме жидкого лекарственного средства, и ингибитором VEGFR является акситиниб, изготовленный в форме 1 мг таблетки или 5 мг таблетки.

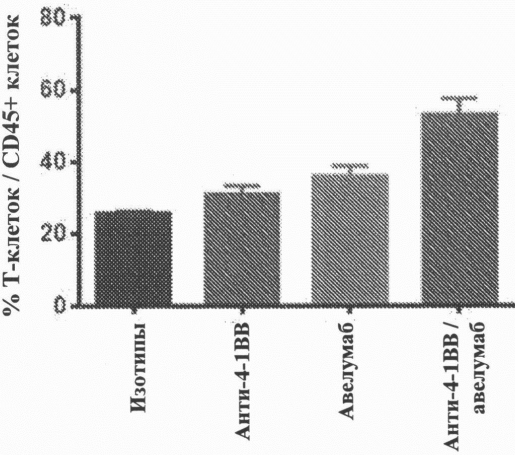
20. Применение антагониста лиганда 1 белка запрограммированной гибели (PD-L1) или лекарственного средства по любому из пп. 1, 3-13, 15, 16 или набора по любому из пп. 17-19, где раком является рак мочевого пузыря, рак молочной железы, светлоклеточный рак почки, плоскоклеточная карцинома головы/шеи, плоскоклеточная карцинома легкого, злокачественная меланома, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC),

рак яичников, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, почечноклеточная карцинома, мелкоклеточный рак легкого (SCLC), тройной негативный рак молочной железы, острый лимфобластный лейкоз (ALL), острый миелоидный лейкоз (AML), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), хронический миелоидный лейкоз (CML), диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (DLBCL), фолликулярная лимфома, лимфома Ходжкина (HL), лимфома из клеток мантии (MCL), множественная миелома (MM), белок миелоидных клеток лейкоза-1 (Mcl-1), миелодиспластический синдром (MDS), неходжкинская лимфома (NHL), плоскоклеточная карцинома головы и шеи (SCCHN) или мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (SLL).

21. Применение антагониста лиганда 1 белка запрограммированной гибели (PD-L1), лекарственного средства по любому из пп. 1, 3-13, 15, 16 или набора по любому из пп. 17-19, где рак представляет собой запущенную форму почечноклеточной карциномы.

22. Применение антагониста белка лиганда 1 запрограммированной смерти, лекарственного средства или набора по п. 21, отличающееся тем, что почечноклеточная карцинома представляет собой запущенную форму почечноклеточной карциномы, которая ранее не подвергалась лечению.

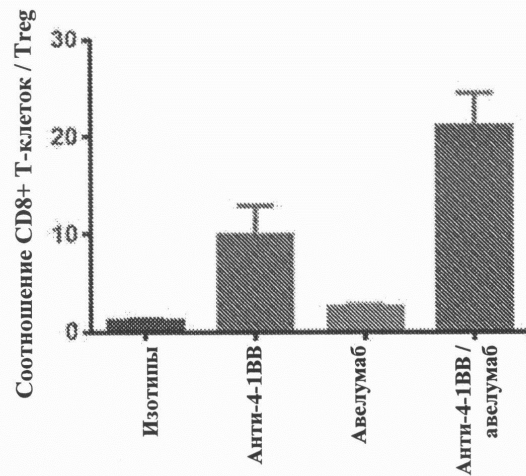
1



Анти-4-1ВВ / авелумаб
Изотипы, $p < 0,0001$
Анти-4-1ВВ, $p < 0,01$
Авелумаб, $p < 0,05$

ФИГ. 1

2



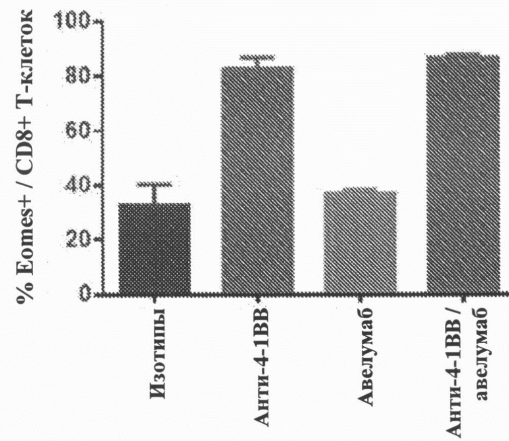
Анти-4-1BB / авелумаб

Изотипы, $p < 0,01$

Анти-4-1BB, $p < 0,05$

Авелумаб, $p < 0,01$

ФИГ. 2



Анти-4-1ВВ / авелумаб

Изотипы, $p < 0,0001$

Анти-4-1ВВ, незнач.

Авелумаб, $p < 0,0001$

ФИГ. 3