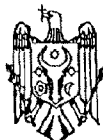




MD/EP 3394103 T2 2023.11.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3394103 (13) T2

(51) Int. Cl: A61P 35/02 (2006.01.01)
C07K 16/28 (2006.01.01)
A61P 35/00 (2006.01.01)
A61K 39/00 (2006.01.01)
A61K 45/06 (2006.01.01)
C07K 16/30 (2006.01.01)
A61K 39/395 (2006.01.01)
A61P 43/00 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

(21) Numărul de depozit: e 2018 1060 (22) Data de depozit: 2016.12.21 (96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 16826557.7, 2016.12.21 (97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3394103, 2018.10.31 (31) Numărul cererii prioritare: 201562270749 P (32) Data de depozit a cererii prioritare: 2015.12.22 (33) Țara cererii prioritare: US	(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 11/2023, 2023.11.30 (80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 26/2023, 2023.06.28 (82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 12/2018, 2018.12.31
(71) Solicitant: REGENERON PHARMACEUTICALS, INC., US (72) Inventatori: VARGHESE Bindu, US; THURSTON Gavin, US; LOWY Israel, US; BROWNSTEIN Carrie, US (73) Titular: REGENERON PHARMACEUTICALS, INC., US (74) Mandatar autorizat: LAZICOV Tatiana	

(54) Combinație de anticorpi anti-PD-1 și anticorpi bispecfici anti-CD20/anti-CD3 pentru tratamentul cancerului

(57) Rezumat:

1

Prezenta invenție se referă la metode pentru tratarea, reducerea severității sau inhibarea creșterii cancerului (de exemplu, a cancerului cu celule B, cum ar fi limfomul Hodgkin sau leucemia limfoblastică acută).

2

Metodele din prezenta invenție cuprind administrarea la un subiect care are nevoie de aceasta a unei cantități terapeutice eficiente de un anticorp sau de un fragment de legare a antigenului acestuia, care se leagă în mod

MD/EP 3394103 T2 2023.11.30

specific de receptorul morții programate 1 (PD-1), în combinație cu o cantitate terapeutic eficientă de un anticorp bispecific, care se leagă în mod specific de CD20 și CD3.

Revendicări: 14
Figuri: 9

(54) Combination of anti-PD-1 antibodies and bispecific anti-CD20/anti-CD3 antibodies to treat cancer

(57) Abstract:

1

The present invention provides methods for treating, reducing the severity, or inhibiting the growth of cancer (e.g., a B-cell cancer such as Hodgkin's lymphoma or acute lymphoblastic leukemia). The methods of the present invention comprise administering to a subject in need thereof a therapeutically effective amount of an antibody or antigen-

2

binding fragment thereof that specifically binds to programmed death 1 (PD-1) receptor in combination with a therapeutically effective amount of a bispecific antibody that specifically binds to CD20 and CD3.

Claims: 14
Fig.: 9

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)****DOMENIUL INVENȚIEI**

Prezenta invenție se referă la un anticorp care se leagă în mod specific la receptorul morții programate 1 (PD-1) pentru utilizarea în metode pentru tratarea Limfomului non-Hodgkin cu celule B în combinație cu un anticorp bispecific care se leagă la CD20 și CD3, metoda respectivă cuprinzând administrarea la un subiect care are nevoie de acesta a unei cantități eficiente terapeutic din fiecare anticorp.

STADIUL TEHNICII

Cancerle cu celule B sunt un grup de cancere eterogene ale globulelor albe din sânge cunoscute sub numele de limfocite B și includ leucemii (situat în sânge) și limfoame (situat în ganglionii limfatici). Limfoamele cu celule B includ, dar nu sunt limitate la, limfomul non-Hodgkin (NHL) și limfomul Hodgkin (HL). Limfoamele sunt împărțite în limfoame indolente (cu creștere lentă) sau limfoame agresive. Un limfom indolent comun este limfomul folicular, în timp ce cel mai frecvent limfom agresiv este limfomul difuz cu celule B mari. Leucemiile cu celule B includ, dar nu sunt limitate la, leucemie limfoblastică acută, leucemie cu celule păroase și leucemie limfocitară cronică cu celule B.

Majoritatea cancerelor cu celule B exprimă CD20 pe suprafața celulelor B mature. Metodele pentru tratarea cancerului prin țintirea CD20 sunt cunoscute în domeniu. De exemplu, anticorpul monoclonal himeric anti-CD20 rituximab a fost utilizat sau sugerat pentru utilizare în tratarea cancerelor cum ar fi NHL, leucemia limfocitară cronică (LLC) și limfomul limfocitar mic (SLL), fie ca monoterapie, dar mai tipic în combinație cu chimioterapie. Deși strategiile de țintire a tumorii anti-CD20 s-au dovedit foarte promițătoare în mediile clinice, nu toți pacienții răspund la terapia anti-CD20 și s-a demonstrat că unii pacienți dezvoltă rezistență sau prezintă răspunsuri incomplete la terapia anti-CD20 (de exemplu, epuizarea parțială a celulele B periferice), din motive care nu sunt bine înțelese (dar care de obicei nu includ pierderea expresiei CD20). Unii pacienți recidivează cu un fenotip mai agresiv sau cu o boală rezistentă la chimioterapie. Mulți pacienți cu limfoame agresive au un prognostic prost și mai puțin de 50% șanse de supraviețuire fără recidivă. Prognosticul pentru pacienții care recidivează sau sunt refractari la terapie rămâne sumbru, cu supraviețuirea medie după terapia de salvare de 2 până la 8 luni.

În plus, chimioterapia în doze mari duce la reacții adverse severe. Astfel, există o mare nevoie nesatisfăcută de terapii care să fie eficiente, să prevină recăderile și să aibă mai puține efecte secundare pentru pacienții cu cancer cu celule B.

Semnalizarea receptorului de moarte programată -1 (PD-1) în micromediul tumorii joacă un rol cheie în a permite celulelor tumorale să scape de supravegherea imună de către sistemul imunitar al gazdei. Blocarea căii de semnalizare PD-1 a demonstrat activitate clinică la pacienții cu mai multe tipuri de tumori, iar terapiile cu anticorpi care blochează PD-1 (de exemplu, nivolumab și pembrolizumab) au fost aprobate pentru tratamentul melanomului metastatic și al cancerului de plamani cu celule scuamoase metastatice non-mici. Date recente au demonstrat activitatea clinică a blocării PD-1 la pacienții cu LNH agresiv și limfom Hodgkin (Lesokhin, et colab. 2014, Abstract 291, 56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, CA; Ansell și colab. 2015, N. Engl. J. Med. 372(4):311 -9).

CD3 este un antigen homodimeric sau heterodimeric exprimat pe celulele T în asocieră cu complexul receptor al celulelor T (TCR) și este necesar pentru activarea celulelor T. S-a demonstrat că anticorpii împotriva CD3 grupează CD3 pe celulele T, provocând astfel activarea celulelor T într-un mod similar cu angajarea TCR de către moleculele MHC încărcate cu peptide. Anticorpi monoclonali bispecifici proiectați să țină la CD20 și CD3 cât și a celulelor care exprimă CD20 cu celule T citotoxice, ducând la uciderea celulelor T policlonale CD20.

Având în vedere nevoia mare nesatisfăcută de terapii eficiente pentru boli maligne cu celule B, ar putea fi util, așa cum se arată aici, să se combine tratamentul cu un agent pentru a crește funcția celulelor T (de exemplu, un inhibitor PD-1, cum ar fi un anticorp anti-PD-1) împreună cu un agent împotriva unui antigen țintă (un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3).

Patentul US 2015/166661 furnizează anticorpi 3 (CD3) anti-aglomerare pentru diferențiere și metode de utilizare acestora. Sunt dezvoltându-se anticorpi bispecifici care se leagă la CD20 și CD3, ca și mijloace pentru tratarea sau întârzierea progresiei unei afecțiuni de proliferare a celulei sau a unei afecțiuni autoimune.

SCURT REZUMAT AL INVENȚIEI

Prezenta invenție furnizează metode pentru tratarea, ameliorarea a cel puțin unui simptom sau indicație, sau inhibarea creșterii cancerului la un subiect. Metodele cuprind administrarea unei cantități eficiente terapeutic dintr-un anticorp sau un fragment de legare la antigen al acestuia așa cum este definit în revendicările care se leagă în mod specific la moartea programată 1 (PD-1) în combinație cu o cantitate

5 eficientă terapeutic dintr-un anticorp bispecific care se leagă în mod specific. așa cum este definit în revendicările că se leagă specific la CD20 și CD3 la un subiect care are nevoie de acestea.

Prezenta invenție prezintă metode pentru tratarea, ameliorarea a cel puțin unui simptom sau indicație, sau inhibarea creșterii cancerului la un subiect. În anumite exemple de realizare, metode pentru întârzierea creșterii unei tumori sau prevenirea recidivei tumorii. Metodele cuprind administrarea

10 secvențială a uneia sau mai multor doze dintr-o cantitate eficientă terapeutic dintr-un anticorp sau un fragment de legare la antigen al acestuia care se leagă în mod specific la PD-1 în combinație cu una sau mai multe doze a unei cantități efective terapeutic dintr-un anticorp bispecific care se leagă în mod specific la CD20 și CD3 la un subiect care are nevoie de acesta.

În anumite aspecte, cancerul sau tumora este o tumoră cu celule heme sau o neoplazie. În anumite aspecte, cancerul sau tumora este o tumoare cu celule B. În anumite aspecte, tumora cu celule B este selectată din grupul constând din limfom Hodgkin, limfom non-Hodgkin, limfom folicular, limfom limfocitar mic, limfom limfoplasmocitoid, limfom din zonă marginală, limfom cu celule de manta, limfom difuz cu celule B mari, limfoame cu celule B, granulomatoză limfomatoză, limfom Burkitt, leucemie limfoblastică acută, leucemie cu celule păroase și leucemie limfocitară cronică cu celule B. În

15 invenție, tumora cu celule B este limfom non-Hodgkin cu celule B.

În invenție, fiecare doză de anticorp anti-PD-1 cuprinde 0,1 - 20 mg/kg din greutatea corporală a subiectului. În anumite variante de realizare, fiecare doză de anticorp anti-PD-1 cuprinde 0,3, 1 sau 3 mg/kg din greutatea corporală a subiectului. În anumite exemple de realizare, fiecare doză de anticorp anti-PD-1 cuprinde 50 - 600 mg.

În anumite exemple de realizare, fiecare doză de anticorp bispecific împotriva CD20 și CD3 cuprinde 0,1 - 10 mg/kg din greutatea corporală a subiectului. În anumite exemple de realizare, fiecare doză de anticorp bispecific cuprinde 10 - 8000 micrograme.

25 În anumite exemple de realizare, fiecare doză de anticorp anti-PD-1 cuprinde 0,3, 1, 3 sau 10

mg/kg din greutatea corporală a subiectului și fiecare doză de anticorp bispecific cuprinde 10 - 3000 micrograme. În anumite variante de realizare, fiecare doză de anticorp anti-PD-1 cuprinde 1, 3 sau 10 mg/kg din greutatea corporală a subiectului și fiecare doză de anticorp bispecific cuprinde 100, 300, 1000 sau 3000 micrograme. În anumite variante de realizare, fiecare doză de anticorp anti-PD-1 cuprinde 50 - 300 mg și fiecare doză de anticorp bispecific cuprinde 100, 300, 1000 sau 3000 micrograme.

30 În anumite variante de realizare, metodele cuprind administrarea unei cantități eficiente terapeutic dintr-un anticorp anti-PD-1 înainte de, concomitent cu sau ulterior unui anticorp bispecific care se leagă în mod specific la CD20 și CD3. Într-o variantă de realizare, metodele cuprind administrarea unui anticorp anti-PD-1 înainte de un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3.

În anumite variante de realizare, metodele cuprind administrarea a 0 - 50 de doze terapeutice

35 fiecare dintr-un anticorp anti-PD-1 și un anticorp bispecific împotriva CD20 și CD3, în care fiecare doză este administrată la 0,5 - 12 săptămâni după doza imediat anterioară. În anumite variante de realizare, fiecare doză de anticorp anti-PD-1 este administrată o dată pe săptămână, o dată la 2 săptămâni sau o dată la 4 săptămâni și fiecare doză de anticorp bispecific este administrată o dată pe săptămână, o dată la 2 săptămâni sau o dată la 4 săptămâni. Într-o variantă de realizare, fiecare doză de anticorp anti-PD-1 este administrată o dată la 2 săptămâni și fiecare doză de anticorp bispecific este administrată o dată pe săptămână.

40 În anumite exemple de realizare, fiecare doză de anticorp bispecific este administrat (sub formă de doze divizate) în mai mult de 1 fracție, de exemplu, sub formă de 2 sau mai multe fracțiuni în perioada de dozare.

În anumite exemple de realizare, anticorpul anti-PD-1 și anticorpul bispecific sunt administrate în combinație cu un al treilea agent terapeutic sau terapie.

45 Conform anumitor aspecte ale invenției, anticorpul anti-PD-1 sau proteina de legare a antigenului cuprinde regiunile de determinare a complementarității lanțului greu (HCDR) ale unei regiuni variabile a lanțului greu (HCVR) cuprinzând secvența de aminoacizi a SEQ ID NR: 1 și lanțul ușor CDR al unei regiuni variabile de lanț ușor (LCVR) cuprinzând secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 2. În invenție, anticorpul anti-PD-1 sau fragmentul de legare la antigen a acestuia cuprinde trei regiuni de determinare a complementarității lanțului greu (CDR) (HCDR1, HCDR2 și HCDR3) și trei lanțuri ușoare CDR (LCDR1, LCDR2 și LCDR3), în care HCDR1 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 3; HCDR2 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 4; HCDR3 cuprinde secvența de amino acid

50 În anumite exemple de realizare, anticorpul anti-PD-1 și anticorpul bispecific sunt administrate în combinație cu un al treilea agent terapeutic sau terapie.

Conform anumitor aspecte ale invenției, anticorpul anti-PD-1 sau proteina de legare a antigenului cuprinde regiunile de determinare a complementarității lanțului greu (HCDR) ale unei regiuni variabile a lanțului greu (HCVR) cuprinzând secvența de aminoacizi a SEQ ID NR: 1 și lanțul ușor CDR al unei regiuni variabile de lanț ușor (LCVR) cuprinzând secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 2. În invenție, anticorpul anti-PD-1 sau fragmentul de legare la antigen a acestuia cuprinde trei regiuni de determinare a complementarității lanțului greu (CDR) (HCDR1, HCDR2 și HCDR3) și trei lanțuri ușoare CDR (LCDR1, LCDR2 și LCDR3), în care HCDR1 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 3; HCDR2 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 4; HCDR3 cuprinde secvența de amino acid

55 În invenție, anticorpul anti-PD-1 sau fragmentul de legare la antigen a acestuia cuprinde trei regiuni de determinare a complementarității lanțului greu (CDR) (HCDR1, HCDR2 și HCDR3) și trei lanțuri ușoare CDR (LCDR1, LCDR2 și LCDR3), în care HCDR1 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 3; HCDR2 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 4; HCDR3 cuprinde secvența de amino acid

din SEQ ID NR 5; LCDR1 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 6; LCDR2 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 7; LCDR3 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 8. Un astfel de tip de proteină de legare a antigenului care poate fi utilizat în contextul metodelor prezentei invenții este un anticorp anti-PD-1 cum ar fi REGN2810.

Conform anumitor aspecte ale dezvăluirii, anticorpul bispecific care se leagă la CD20 și CD3 cuprinde: (i) un prim braț de legare a antigenului care cuprinde CDR-urile cu lanț greu (A-HCDR1, A-HCDR2 și A-HCDR3) ale unui HCVR (A-HCVR) din SEQ ID NR: 11 și CDR-urile de lanț ușor (LCDR1, LCDR2 și LCDR3) ale unui LCVR din SEQ ID NR: 12; și (ii) un al doilea braț de legare a antigenului care cuprinde CDR-urile cu lanț greu (B-HCDR1, B-HCDR2 și B-HCDR3) ale unui HCVR (B-HCVR) din SEQ ID NR: 13 și CDR-urile cu lanț ușor (LCDR1, LCDR2 și LCDR3) ale unui LCVR din SEQ ID NR: 12. În invenție, primul braț de legare la antigen al anticorpului bispecific care se leagă la CD20 și CD3 cuprinde trei regiuni

de determinare a complementarității lanțului greu (CDR) (A-HCDR1, A-HCDR2 și A-HCDR3) și trei lanțuri ușoare CDR (LCDR1, LCDR2 și LCDR3), în care A-HCDR1 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 14; A-HCDR2 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 15; A-HCDR3 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 16; LCDR1 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 17; LCDR2 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 18; LCDR3 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 19; și al doilea braț de legare la antigen a anticorpului bispecific care se leagă la CD20 și CD3 cuprinde trei lanțuri grele CDR (B-HCDR1, B-HCDR2 și B-HCDR3) și trei lanțuri ușoare CDR (LCDR1, LCDR2 și LCDR3), în care B-HCDR1 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 20; B-HCDR2 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 21; B-HCDR3 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 22; LCDR1 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 17; LCDR2 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 18; LCDR3 cuprinde secvența de amino acid din SEQ ID NR 19.

În anumite exemple de realizare, prezenta invenție furnizează utilizarea unui anticorp anti-PD-1 sau a unui fragment de legare la antigen al acestuia singur sau în combinație cu un anticorp bispecific împotriva CD20 și CD3 la fabricarea unui medicament pentru tratarea sau inhibarea creșterii cancerului la un subiect, inclusiv oameni. În anumite realizări, cancerul este un cancer cu celule B. Într-o variantă de realizare, cancerul este limfomul non-Hodgkin. Într-o variantă de realizare, cancerul este limfomul Hodgkin. Într-o variantă de realizare, cancerul este leucemia limfoblastică acută.

În anumite exemple de realizare, prezenta invenție furnizează, de asemenea, o compoziție farmaceutică pentru utilizare într-o metodă de tratare a limfomului non-Hodgkin cu celule B, respectiva compoziție cuprinzând un anticorp sau un fragment al acestuia de legare la antigen care leagă în mod specific moartea programată 1 (PD-1) și un anticorp bispecific care cuprinde un prim braț de legare a antigenului care leagă în mod specific CD20 și un al doilea braț de legare a antigenului care leagă în mod specific CD3, în care:

anticorpul anti-PD-1 sau fragmentul acestuia de legare la antigen cuprinde trei regiuni de determinare a complementarității lanțului greu (CDR) (HCDR1, HCDR2 și HCDR3) și trei CDR a lanțului ușor (LCDR1, LCDR2 și LCDR3), în care HCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 3; HCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 4; HCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 5; LCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 6; LCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 7; și LCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 8;

primul braț de legare a antigenului al anticorpului bispecific cuprinde trei CDR-uri cu lanț greu (A-HCDR1, A-HCDR2 și A-HCDR3) și trei CDR-uri de lanț ușor (LCDR1, LCDR2 și LCDR3), în care A-HCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 14; A-HCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 15; A-HCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 16; LCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR 17; LCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 18; și LCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 19;

al doilea braț de legare a antigenului al anticorpului bispecific cuprinde trei CDR-uri cu lanț greu (B-HCDR1, B-HCDR2 și B-HCDR3) și trei CDR-uri cu lanț ușor (LCDR1, LCDR2 și LCDR3), în care B-HCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 20; B-HCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 21; B-HCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 22; LCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR 17; LCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 18; și LCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 19; și

compoziția cuprinde 0,05 până la 600 mg de anticorp anti-PD-1.

Alte exemple de realizare ale prezentei invenții vor deveni evidente dintr-o trecere în revistă a descrierii detaliate care urmează.

SCURTĂ DESCRIERE A FIGURILOR

Figura 1 rezumă rezultatele eficacității in vivo a anticorpului anti-PD-1 de șoarece singur și în combinație cu anticorpii bispecifici anti-CD20/anti-CD3 împotriva tumorilor B16_CD20+ stabilite (descrie în Exemplul 1 de aici).

Figura 2 prezintă șoareci randomizați în cohorte pe baza mărimii tumorii (așa cum este descris în Exemplul 2 de aici).

Figura 3 rezumă rezultatele eficacității in vivo a anticorpului anti-PD-1 de șoarece singur și în combinație cu anticorpii anti-CD20/anti-CD3 bispecifici împotriva tumorilor B16_CD20+ stabilite (descrie în Exemplul 2 de aici).

Figura 4 prezintă o reprezentare schematică a brațelor de tratament și a cohortelor de doză pentru pacienții cu limfom (limfom non-Hodgkin cu celule B și limfom Hodgkin) (descrie în Exemplul 3 de aici).

Figura 5 prezintă o reprezentare schematică a brațelor de tratament și a cohortelor de doză pentru pacienții cu leucemie limfoblastică acută (descrie în Exemplul 3 de aici).

Figura 6 este o diagramă de flux de studiu a programului de tratament cu anticorp anti-PD-1 cu un singur agent (REGN2810) pentru pacienții cu limfom (limfom non-Hodgkin cu celule B și limfom Hodgkin) (descrie în Exemplul 3 de aici).

Figura 7 este o diagramă de flux de studiu a programului de tratament cu anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 cu un singur agent (bsAb1) pentru pacienții cu afecțiuni leucemie limfoblastică acută (descrie în Exemplul 3 de aici).

Figura 8 este o diagramă de flux de studiu a programului de tratament combinat bsAb1 + REGN2810 pentru pacienții cu limfom non-Hodgkin cu celule B (descrie în Exemplul 3 de aici).

Figura 9 este o diagramă de flux de studiu a programului de tratament combinat bsAb1 + REGN2810 pentru pacienții cu leucemie limfoblastică acută (descrie în Exemplul 3 de aici).

DESCRIERE DETALIATĂ

Înainte ca prezenta invenție să fie descrisă, trebuie să se înțeleagă că această invenție nu este limitată la anumite metode și condiții experimentale descrise, deoarece astfel de metode și condiții pot varia. De asemenea, trebuie înțeles că terminologia utilizată aici are doar scopul de a descrie exemple de realizare particulare și nu se intenționează să fie limitativă, deoarece scopul prezentei invenții va fi limitat doar de revendicările anexate.

Dacă nu este definit altfel, toți termenii tehnici și științifici utilizați aici au aceeași semnificație pe care o înțelege în mod obișnuit o persoană cu calificare obișnuită în domeniul căruia îi aparține această invenție. Așa cum este utilizat aici, termenul "aproximativ", atunci când este utilizat cu referire la o anumită valoare numerică citată, înseamnă că valoarea poate varia de la valoarea indicată cu nu mai mult de 1 %. De exemplu, așa cum este utilizată aici, expresia „aproximativ 100” include 99 și 101 și toate valorile dintre acestea (de exemplu, 99.1, 99.2, 99.3, 99.4 etc.).

Deși orice metode și materiale similare sau echivalente cu cele descrise aici pot fi utilizate în practica prezentei invenții, metodele și materialele preferate sunt acum descrise.

Metode pentru Tratarea sau Inhibarea Creșterii Cancerelor cu celule B

Prezenta invenție include metode pentru tratarea, ameliorarea sau reducerea severității a cel puțin unui simptom sau indicație, sau inhibarea creșterii unui cancer la un subiect. Metodele cuprind administrarea unei cantități eficiente terapeutic dintr-un anticorp sau un fragment de legare la antigen al acestuia care leagă în mod specific PD-1 în combinație cu o cantitate eficientă terapeutic dintr-un anticorp bispecific împotriva CD20 și CD3 la un subiect care are nevoie. a acestuia. Așa cum sunt utilizați aici, termenii „tratat”, „tratare” sau alții asemenea, înseamnă atenuarea simptomelor, eliminarea cauzei simptomelor fie temporar, fie permanent, întârzierea sau inhibarea creșterii tumorii, reducerea încărcăturii de celule tumorale sau tumori, printru a promova regresia tumorii, pentru a provoca contracția tumorii, necroza și/sau dispariția, pentru a preveni reapariția tumorii și/sau pentru a crește durata de supraviețuire a subiectului.

Așa cum este utilizată aici, expresia „un subiect care are nevoie de acesta” înseamnă un mamifer uman sau non-uman care prezintă unul sau mai multe simptome sau indicii de cancer și/sau care a fost diagnosticat cu cancer, inclusiv un cancer cu celule B și care are nevoie tratament pentru aceasta. Termenul "subiect" poate fi utilizat în mod interschimbabil cu termenul "pacient". De exemplu, un subiect uman poate fi diagnosticat cu o tumoră primară sau metastatică și/sau cu unul sau mai multe simptome sau indicații incluzând, dar fără a se limita la, ganglioni limfatici măriți, abdomen umflat, durere/presiune

în piept, pierdere inexplicabilă în greutate, febră, transpirații nocturne, oboseală persistentă, pierderea poftelor de mâncare, mărirea splinei, mâncărime. Expresia include subiecți cu tumori cu celule B primare sau stabilite. În realizări specifice, expresia include subiecți umani care au și necesită tratament pentru o malignitate cu celule B, de exemplu, limfom Hodgkin, limfom non-Hodgkin, limfom folicular, limfom limfocitar mic, limfom limfoplasmocitoid, limfom din zonă marginală, limfom difuz cu celule de manta. limfom difuz cu celule B mari, limfoame cu celule B, granulomatoză limfomatoidă, limfom Burkitt, leucemie limfoblastică acută, leucemie cu celule păroase și leucemie limfocitară cronică cu celule B. Într-un alt exemplu de realizare, expresia include persoane cu un subtip patologic de cancer cu celule B, așa cum este listat în Tabelele 3 - 5 de aici. În alte realizări specifice, expresia include subiecți cu tumori CD20+ (de exemplu, o tumoră cu expresie CD20 determinată prin citometrie în flux pe $\geq 20\%$ din limfoblastele leucemice). În anumite variante de realizare, expresia „un subiect care are nevoie de acesta” include pacienți cu un cancer cu celule B care este rezistent la sau refractar la sau este controlat în mod inadecvat prin terapia anterioară (de exemplu, tratament cu un agent anticancer convențional). De exemplu, expresia include subiecți care au fost tratați cu un inhibitor CD20 (de exemplu, rituximab), chimioterapie sau un agent de modulare imunologică, cum ar fi un blocant al CTLA, IBB, LAG3 sau OX-40. Expresia include, de asemenea, subiecți cu o malignitate a celulelor B pentru care terapia convențională anticancer este nerecomandabilă, de exemplu, din cauza efectelor secundare toxice. De exemplu, expresia include pacienți care au primit unul sau mai multe cicluri de chimioterapie cu efecte secundare toxice. În anumite variante de realizare, expresia „un subiect care are nevoie de aceasta” include pacienți cu o malignitate cu celule B care a fost tratată dar care a recidivat sau a metastazat ulterior. De exemplu, pacienții cu o malignitate cu celule B care ar putea fi primit tratament cu unul sau mai mulți agenți anti-cancer care conduc la regresia tumorii; totuși, ulterior au recidivat cu cancer rezistent la unul sau mai mulți agenți anticancer (de exemplu, cancer rezistent la chimioterapie) sunt tratați cu metodele prezentei invenții.

Expresia „un subiect care are nevoie de aceasta” include, de asemenea, subiecți care prezintă risc de a dezvolta un cancer cu celule B, de exemplu, persoane cu antecedente familiale de limfom, persoane cu antecedente de infecții Epstein-Barr, cum ar fi mononucleoza infecțioasă sau persoanele cu un sistem imunitar compromis din cauza infecției cu HIV sau din cauza medicamentelor imunosupresoare.

În anumite exemple de realizare, metodele pot fi utilizate pentru a trata pacienții care prezintă niveluri crescute ale unuia sau mai multor biomarkeri asociați cancerului [de exemplu, ligand de moarte programată 1 (PD-L1), CD20, beta-2-microglobulină, lactat, dehidrogenază, gena de fuziune BCR-ABL, rearanjarea genei ALK]. De exemplu, metodele cuprind administrarea unei cantități eficiente terapeutic dintr-un anticorp anti-PD-1 în combinație cu un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 la un pacient cu un nivel crescut de PD-L1 și/sau CD20.

În anumite aspecte ale dezvăluirii, metodele sunt utilizate la un subiect cu cancer cu celule B. Termenii "tumoră", "cancer" și "malignitate" sunt utilizați în mod interschimbabil aici. Termenul "cancer cu celule B", așa cum este utilizat aici, se referă la tumorile celulelor albe din sânge cunoscute ca limfocite B și include leucemii (situate în sânge) și limfoame (situate în ganglionii limfatici). Prezentarea invenției include metode de tratare atât a leucemiilor, cât și a limfoamelor. În anumite realizări, cancerul cu celule B include, dar nu se limitează la, limfom Hodgkin, limfom non-Hodgkin, limfom folicular, limfom limfocitar mic, limfom limfoplasmocitoid, limfom din zonă marginală, limfom cu celule de manta, limfom difuz cu celule B mari, B - limfoame celulare, granulomatoză limfomatoidă, limfom Burkitt, leucemie limfoblastică acută, leucemie cu celule păroase, leucemie limfocitară cronică cu celule B, precum și subtipurile patologice enumerate în Tabelele 3 - 5 de aici. Limfoamele cu celule B sunt de obicei împărțite în grad scăzut și înalt, corespunzând de obicei limfoamelor indolente (cu creștere lentă) și, respectiv, limfoamelor agresive.

Prezentarea invenției include metode pentru a trata atât limfoamele indolente, cât și cele agresive. În invenție, cancerul cu celule B este limfom non-Hodgkin.

Conform anumitor variante de realizare, prezentarea invenției include metode pentru tratarea, sau întârzierea sau inhibarea creșterii unei tumori. În anumite exemple de realizare, prezentarea invenției include metode pentru a promova regresia tumorii. În anumite exemple de realizare, prezentarea invenției include metode pentru a reduce încărcarea celulelor tumorale sau pentru a reduce sarcina tumorală. În anumite exemple de realizare, prezentarea invenției include metode de prevenire a recidivei tumorii. Metodele, conform acestui aspect al invenției, cuprind administrarea secvențială a unei cantități eficiente terapeutic dintr-un anticorp anti-PD-1 așa cum este definit în revendicări în combinație cu un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 la un subiect care are nevoie de acesta, în care fiecare anticorp este administrat subiectului în doze multiple, de exemplu, ca parte a unui regim de dozare terapeutic specific. De exemplu, regimul de dozare terapeutic poate cuprinde administrarea uneia sau mai multor doze de anticorp anti-PD-1 la subiect la o frecvență de aproximativ o dată pe zi, o dată la două zile, o dată la trei zile, o dată la patru

zile, o dată la fiecare cinci zile, o dată la șase zile, o dată pe săptămână, o dată la două săptămâni, o dată la trei săptămâni, o dată la patru săptămâni, o dată pe lună, o dată la două luni, o dată la trei luni, o dată la patru luni sau mai rar. În anumite variante de realizare, una sau mai multe doze de anticorp anti-PD-1 sunt administrate în combinație cu una sau mai multe doze dintr-o cantitate eficientă terapeutică dintr-un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3, în care una sau mai multe doze de anticorpii bispecifici sunt administrate subiectului cu o frecvență de aproximativ o dată pe zi, o dată la două zile, o dată la trei zile, o dată la patru zile, o dată la cinci zile, o dată la șase zile, o dată pe săptămână, o dată la două săptămâni, o dată la trei săptămâni, o dată la patru săptămâni, o dată pe lună, o dată la două luni, o dată la trei luni, o dată la patru luni sau mai rar. În anumite variante de realizare, fiecare doză de anticorp anti-CD20/anti-CD3 este administrată în mai mult de 1 fracție, de exemplu, în 2 - 5 fracții ("dozare divizată") în perioada de dozare dată. Anticorpul bispecific anti-CD20/anti-CD3 poate fi administrat în doze fracționate pentru a reduce sau elimina „vârfurile” de citokine induse ca răspuns la administrarea anticorpului. Vârfurile de citokine se referă la simptomele clinice ale sindromului de eliberare de citokine („furtuna de citokine”) și reacțiile legate de perfuzie, observate la pacienții cărora li s-au administrat anticorpi anti-CD20. În anumite exemple de realizare, metodele prezentei invenții cuprind administrarea uneia sau mai multor doze de anticorp anti-PD-1 în combinație cu una sau mai multe doze de anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 la un subiect care are nevoie de acesta, în care o doză de anticorp bispecific este administrată ca doze divizate, sau în mai mult de 1 fracție, de exemplu, sub formă de 2 fracții, ca 3 fracții, ca 4 fracții sau ca 5 fracții în perioada de dozare dată. În anumite variante de realizare, o doză de anticorp bispecific este împărțită în 2 sau mai multe fracții, în care fiecare fracțiune cuprinde o cantitate de anticorp egală cu celelalte fracții. De exemplu, o doză de anticorp anti-CD20/anti-CD3 cuprinzând 1000 micrograme poate fi administrată o dată pe săptămână, în care doza este administrată în 2 fracțiuni în decursul săptămânii, fiecare fracțiune cuprinzând 500 micrograme. În anumite variante de realizare, o doză de anticorp bispecific este administrată împărțită în 2 sau mai multe fracții, în care fracțiunile cuprind cantități inegale de anticorp, de exemplu, mai mult decât sau mai puțin decât prima fracție. De exemplu, o doză de anticorp anti-CD20/anti-CD3 cuprinzând 1000 micrograme poate fi administrată o dată pe săptămână, în care doza este administrată în 2 fracții în cursul săptămânii, în care prima fracțiune cuprinde 700 micrograme și a doua fracțiune cuprinde 300 micrograme. Ca un alt exemplu, o doză de anticorp anti-CD20/anti-CD3 care cuprinde 1000 micrograme poate fi administrată o dată la 2 săptămâni, în care doza este administrată în 3 fracții în perioada de 2 săptămâni, în care prima fracțiune cuprinde 400 micrograme, a doua fracțiune cuprinde 300 micrograme și a treia fracțiune cuprinde 300 micrograme.

În anumite exemple de realizare, prezenta invenție include metode de inhibare, întârziere sau oprire a metastazei tumorale sau infiltrarea tumorii în organele periferice. Metodele cuprind administrarea unei cantități eficiente terapeutică dintr-un anticorp anti-PD-1 unui subiect care are nevoie de acesta. În anumite realizări, anticorpul anti-PD-1 este administrat în combinație cu un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3.

În realizări specifice, prezenta invenție furnizează metode pentru creșterea eficacității anti-tumorale sau inhibarea creșterii a tumorii. Metodele cuprind administrarea unui subiect cu cancer cu celule B a unei cantități eficiente terapeutică dintr-un anticorp anti-PD-1 înainte de administrarea unei cantități eficiente terapeutică dintr-un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3, în care anticorpul anti-PD-1 poate fi administrat aproximativ 1 zi, mai mult de 1 zi, mai mult de 2 zile, mai mult de 3 zile, mai mult de 4 zile, mai mult de 5 zile, mai mult de 6 zile, mai mult de 7 zile sau cu mai mult de 8 zile înainte de anticorpul bispecific. În anumite exemple de realizare, metodele asigură o inhibare crescută a tumorii, de exemplu, cu aproximativ 20%, mai mult de 20%, mai mult de 30%, mai mult de 40% mai mult de 50%, mai mult de 60%, mai mult de 70% sau mai mult de 80% în comparație cu un subiect cărui i s-a administrat anticorpul bispecific înainte de anticorpul anti-PD-1.

În anumite variante de realizare, metodele prezentei invenții cuprind administrarea unei cantități eficiente terapeutică dintr-un anticorp anti-PD-1 la un subiect cu cancer cu celule B. În realizări specifice, cancerul cu celule B este limfomul Hodgkin sau limfomul non-Hodgkin. În alte realizări, cancerul cu celule B este indolent sau agresiv. În anumite variante de realizare, subiectul nu răspunde la terapia anterioară sau a recidivat după terapia anterioară. În anumite variante de realizare, metodele mai cuprind administrarea unui anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 la un subiect cu cancer cu celule B CD20+.

În anumite variante de realizare, metodele cuprind administrarea unei cantități eficiente terapeutică dintr-un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 la un subiect cu cancer cu celule B CD20+. În realizări specifice, cancerul cu celule B este leucemia limfoblastică acută sau leucemia limfocitară cronică. În alte realizări, cancerul cu celule B este indolent sau agresiv. În anumite realizări, subiectul nu răspunde la terapia anterioară sau a recidivat după terapia anterioară (de exemplu, cu un inhibitor anti-CD20 cum ar fi rituximab). În anumite variante de realizare, metodele cuprind în plus administrarea unui anticorp anti-PD-1 la un subiect cu cancer cu celule B.

În anumite variante de realizare, metodele prezentei invenții cuprind administrarea unui anticorp anti-PD-1 în combinație cu un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 la un subiect care are nevoie de acesta ca tratament de „prima linie” (de exemplu, tratament inițial). În alte exemple de realizare, un anticorp anti-PD-1 în combinație cu un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 este administrat ca tratament de „linia a doua” (de exemplu, după o terapie anterioară). De exemplu, un anticorp anti-PD-1 în combinație cu un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 este administrat ca tratament de „linia a doua” unui subiect care a recidivat după terapia anterioară cu, de exemplu, chimioterapie sau rituximab.

În anumite exemple de realizare, prezenta invenție este utilizată pentru a trata un pacient cu o boală MRD-pozitivă. Boala reziduală minimă (MRD) se referă la un număr mic de celule canceroase care rămân în pacient în timpul sau după tratament, în care pacientul poate prezenta sau nu simptome sau semne ale bolii. Astfel de celule canceroase reziduale, dacă nu sunt eliminate, duc frecvent la recidiva bolii. Prezenta invenție include inhibarea și/sau eliminarea celulelor canceroase reziduale la un pacient la testarea MRD. MRD poate fi testată conform metodelor cunoscute în domeniu (de exemplu, citometrie în flux MRD). Metodele cuprind administrarea unui anticorp anti-PD-1 în combinație cu un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 la un subiect care are nevoie de acesta.

Invenția, conform anumitor variante de realizare, cuprinde administrarea unui subiect a unei cantități eficiente terapeutic din fiecare dintre un anticorp anti-PD-1 și un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 în combinație cu un al treilea agent terapeutic. Al treilea agent terapeutic poate fi un agent selectat din grupul constând din, de exemplu, radiații, chimioterapie, intervenții chirurgicale, un vaccin împotriva cancerului, un inhibitor PD-L1 (de exemplu, un anticorp anti-PD-L1), un inhibitor LAG3 (de exemplu, un anticorp anti-LAG3), un inhibitor CTLA-4, un inhibitor TIM3, un inhibitor BTLA, un inhibitor TIGIT, un inhibitor CD47, un inhibitor al indoleamin-2,3-dioxigenazei (IDO), un factor de creștere endotelial vascular (VEGF) antagonist, un inhibitor Ang2, un inhibitor al factorului de creștere transformant beta (TGFβ), un inhibitor al receptorului factorului de creștere epidermic (EGFR), un anticorp la un antigen specific tumorii (de exemplu, CA9, CA125, antigenul 3 asociat melanomului (MAGE3), un antigen carcinoembrionar (CEA), vimentină, tumoră-M2-PK, antigen prostatic specific (PSA), mucin-1, MART-1 și CA19-9), un vaccin (de exemplu, Bacillus Calmette-Guerin factor de stimulare a coloniilor de), granulocite-macrofage, o citotoxină, un agent chimioterapeutic, un inhibitor IL-6R, un inhibitor IL-4R, un inhibitor IL-10, o citokină cum ar fi IL-2, IL-7, IL-21 și IL-15, un medicament antiinflamator cum ar fi corticosteroizii și medicamentele antiinflamatoare nesteroidiene și un supliment alimentar, cum ar fi antioxidanții. În anumite variante de realizare, anticorpul pot fi administrați în combinație cu terapie incluzând un agent chimioterapeutic, radiații și intervenții chirurgicale. Așa cum este utilizată aici, expresia „în combinație cu” înseamnă că anticorpul sunt administrați subiectului în același timp cu, chiar înainte sau imediat după administrarea celui de-al treilea agent terapeutic. În anumite realizări, al treilea agent terapeutic este administrat ca o formulare cu anticorpul. Într-o variantă de realizare înrudită, prezenta invenție include administrarea unei cantități eficiente terapeutic dintr-un anticorp anti-PD-1 în combinație cu un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 la un subiect care se află într-un regim terapeutic de bază anti-cancer. Regimul terapeutic anti-cancer de fond poate cuprinde un curs de administrare de, de exemplu, un agent chimioterapeutic sau radiații. Anticorpul anti-PD-1 în combinație cu un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 poate fi adăugat peste regimul terapeutic de bază anti-cancer. În unele exemple de realizare, anticorpul sunt adăugați ca parte a unei scheme de „reducere de fond”, în care terapia de fundal anti-cancer este retrasă treptat de la subiect în timp (de exemplu, într-un mod treptat), în timp ce anticorpul sunt administrați la subiect la o doză constantă, sau la o doză în creștere sau la o doză descrescătoare, în timp.

În anumite exemple de realizare, invenția cuprinde administrarea unui subiect care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente terapeutic dintr-un anticorp anti-PD-1 în combinație cu o cantitate eficientă terapeutic dintr-un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3, în care administrarea anticorpilor conduce la o inhibare crescută a creșterii tumorii. În anumite exemple de realizare, creșterea tumorii este inhibată cu cel puțin aproximativ 10%, aproximativ 20%, aproximativ 30%, aproximativ 40%, aproximativ 50%, aproximativ 60%, aproximativ 70% sau aproximativ 80% în comparație cu un subiect netratat sau un subiect cărui i s-a administrat oricare anticorp ca mono-terapie. În anumite exemple de realizare, administrarea unui anticorp anti-PD-1 și/sau a unui anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 duce la creșterea regresiei tumorii, la contracția tumorii și/sau la dispariție. În anumite exemple de realizare, administrarea unui anticorp anti-PD-1 și/sau a unui anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 duce la întârzierea creșterii și dezvoltării tumorii, de exemplu, creșterea tumorii poate fi întârziată cu aproximativ 3 zile, mai mult de 3 zile, aproximativ 7 zile, mai mult de 7 zile, mai mult de 15 zile, mai mult de 1 lună, mai mult de 3 luni, mai mult de 6 luni, mai mult de 1 an, mai mult de 2 ani sau mai mult de 3 ani în comparație cu un subiect netratat sau un subiect tratat cu oricare anticorp ca mono-terapie. În anumite variante de realizare, administrarea unui anticorp anti-PD-1 în combinație cu un anticorp

bispecific anti-CD20/anti-CD3 previne recidiva tumorii și/sau crește durata de supraviețuire a subiectului, de exemplu, crește durata de supraviețuire cu mai mult de 15 zile, mai mult de 1 lună, mai mult de 3 luni, mai mult de 6 luni, mai mult de 12 luni, mai mult de 18 luni, mai mult de 24 de luni, mai mult de 36 de luni sau mai mult de 48 de luni decât un subiect netratat sau un subiect cărui i se administrează anticorp ca mono-terapie. În anumite realizări, administrarea anticorpilor în combinație crește supraviețuirea fără progresie sau supraviețuirea globală. În anumite variante de realizare, administrarea unui anticorp anti-PD-1 în combinație cu un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 crește răspunsul și durata răspunsului la un subiect, de exemplu, cu mai mult de 2%, mai mult de 3%, mai mult, peste 4%, mai mult de 5%, mai mult de 6%, mai mult de 7%, mai mult de 8%, mai mult de 9%, mai mult de 10%, mai mult de 20%, mai mult de 30%, mai mult de 40% sau mai mult peste 50% față de un subiect netratat sau de un subiect care a primit oricare anticorp ca mono-terapie. În anumite variante de realizare, administrarea unui anticorp anti-PD-1 și/sau a unui anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 la un subiect cu cancer cu celule B duce la dispariția completă a tuturor dovezilor de celule tumorale ("răspuns complet"). În anumite variante de realizare, administrarea unui anticorp anti-PD-1 și/sau a unui anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 la un subiect cu cancer cu celule B duce la o scădere cu cel puțin 30% sau mai mult a celulelor tumorale sau a dimensiunii tumorii („răspuns parțial”). În anumite variante de realizare, administrarea unui anticorp anti-PD-1 și/sau a unui anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 la un subiect cu cancer cu celule B duce la dispariția totală sau parțială a celulelor/leziunilor tumorale inclusiv noi leziuni măsurabile. Reducerea tumorii poate fi măsurată prin oricare dintre metodele cunoscute în domeniu, de exemplu, raze X, tomografie cu emisie de pozitroni (PET), tomografie computerizată (CT), imagistică prin rezonanță magnetică (RMN), citologie, histologie sau analize genetice moleculare.

În anumite variante de realizare, combinația de anticorpi administrați este sigură și bine tolerată de către un pacient în care nu există o creștere a unui efect secundar advers [de exemplu, eliberare crescută de citokine („furtună de citokine”) sau activare crescută a celulelor T] în comparație cu un pacient cărui i s-a administrat anticorpul bispecific ca mono-terapie.

Anticorpi anti-PD-1 și Fragmente ale Acestora de Legare la Antigen

Termenul "anticorp", așa cum este utilizat aici, include molecule de imunoglobulină cuprinzând patru lanțuri polipeptidice, două lanțuri grele (H) și două lanțuri ușoare (L) interconectate prin legături disulfură, precum și multimeri ai acestora (de exemplu, IgM). Într-un anticorp tipic, fiecare lanț greu cuprinde o regiune variabilă a lanțului greu (abreviată aici ca HCVR sau V_H) și o regiune constantă a lanțului greu. Regiunea constantă a lanțului greu cuprinde trei domenii, C_{H1} , C_{H2} și C_{H3} . Fiecare lanț ușor cuprinde o regiune variabilă a lanțului ușor (abreviată aici ca LCVR sau V_L) și o regiune constantă a lanțului ușor. Regiunea constantă a lanțului ușor cuprinde un domeniu (C_{L1}). Regiunile V_H și V_L pot fi subdivizate în continuare în regiuni de hipervariabilitate, numite regiuni de determinare a complementarității (CDR), intercalate cu regiuni care sunt mai conservate, numite regiuni cadru (FR). Fiecare V_H și V_L este compus din trei CDR-uri și patru FR-uri, aranjate de la amino-terminal la carboxi-terminal în următoarea ordine: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. În diferite realizări ale invenției, FR-urile anticorpului anti-PD-1 (sau porțiunea de legare a antigenului a acestuia) pot fi identice cu secvențele liniei germinale umane sau pot fi modificate în mod natural sau artificial. O secvență consens de aminoacizi poate fi definită pe baza unei analize alăturate a două sau mai multe CDR-uri.

Termenul "anticorp", așa cum este utilizat aici, include, de asemenea, fragmente de legare la antigen ale moleculelor de anticorp complet. Termenii "porțiune de legare la antigen" a unui anticorp, "fragment de legare a antigenului" a unui anticorp și altele asemenea, așa cum sunt utilizate aici, includ orice polipeptidă sau glicoproteină care apare în mod natural, pot fi obținute enzimatic, sintetic, sau prin inginerie genetică, care se leagă în mod specific la un antigen pentru a forma un complex. Fragmentele de legare la antigen ale unui anticorp pot fi derivate, de exemplu, din molecule de anticorp complet folosind orice tehnici standard adecvate, cum ar fi digestia proteolitică sau tehnici de inginerie genetică recombinată care implică manipularea și exprimarea ADN-ului care codifică domenii variabile și opțional constante ale anticorpului. Un astfel de ADN este cunoscut și/sau este ușor disponibil din, de exemplu, surse comerciale, biblioteci de ADN (inclusiv, de exemplu, biblioteci de anticorpi fagi) sau poate fi sintetizat. ADN-ul poate fi secvențiat și manipulat chimic sau prin utilizarea tehnicilor de biologie moleculară, de exemplu, pentru a aranja unul sau mai multe domenii variabile și/sau constante într-o configurație adecvată sau pentru a introduce codoni, a crea resturi de cisteină, a modifica, adăuga sau șterge aminoacizi, etc.

Exemple nelimitative de fragmente de legare la antigen includ: (i) fragmente Fab; (ii) fragmente $F(ab')_2$; (iii) fragmente Fd; (iv) fragmente Fv; (v) molecule Fv (scFv) cu catenă unică; (vi) fragmente dAb; și (vii) unități minime de recunoaștere constând din resturile de aminoacizi care imită regiunea hipervariabilă a unui anticorp (de exemplu, o regiune izolată de determinare a complementarității (CDR) cum ar fi o peptidă CDR3) sau o peptidă FR3-CDR3-FR4 constrânsă. Alte molecule modificate, cum ar fi

anticorpi specifici unui domeniu, anticorpi cu un singur domeniu, anticorpi cu deleție de domeniu, anticorpi himeric, anticorpi greșați cu CDR, diacorpi, triacorpi, tetracorpi, minicorpi, nanocorpi (de exemplu, nanocorpi monovalenți, nanocorpi bivalenți etc.), mici imunofarmaceutice modulare (SMIP) și domenii variabile IgNAR de rechin, sunt de asemenea cuprinse în expresia "fragment de legare la antigen", așa cum este utilizat aici.

Un fragment de legare la antigen al unui anticorp va cuprinde de obicei cel puțin un domeniu variabil. Domeniul variabil poate fi de orice dimensiune sau compoziție de aminoacizi și va cuprinde în general cel puțin un CDR care este adiacent sau în cadru cu una sau mai multe secvențe cadru. În fragmentele de legare la antigen care au un domeniu V_H asociat cu un domeniu V_L , domeniile V_H și V_L pot fi situate unul față de celălalt în orice aranjament adecvat. De exemplu, regiunea fragmentul de legare la antigen al unui anticorp poate conține un domeniu V_H sau V_L monomeric.

În anumite variante de realizare, un fragment de legare la antigen al unui anticorp poate conține cel puțin un domeniu variabil legat covalent la cel puțin un domeniu constant. Configurațiile exemplificative, nelimitative ale domeniilor variabile și constante care pot fi găsite într-un fragment de legare la antigen al unui anticorp din prezenta invenție includ: (i) V_H-C_{H1} ; (ii) V_H-C_{H2} ; (iii) V_H-C_{H3} ; (iv) $V_H-C_{H1}-C_{H2}$; (v) $V_H-C_{H1}-C_{H2}-C_{H3}$; (vi) $V_H-C_{H2}-C_{H3}$; (vii) V_H-C_L ; (viii) V_L-C_{H1} ; (ix) V_L-C_{H2} ; (x) V_L-C_{H3} ; (xi) $V_L-C_{H1}-C_{H2}$; (xii) $V_L-C_{H1}-C_{H2}-C_{H3}$; (xiii) $V_L-C_{H2}-C_{H3}$; și (xiv) V_L-C_L . În orice configurație a domeniilor variabile și constante, incluzând oricare dintre configurațiile exemplificative enumerate mai sus, domeniile variabile și constante pot fi fie legate direct între ele, fie pot fi legate printr-o balama sau o regiune de legătură completă sau parțială. O regiune balama poate consta din cel puțin 2 (de exemplu, 5, 10, 15, 20, 40, 60 sau mai mulți) aminoacizi care au ca rezultat o legătură flexibilă sau semiflexibilă între domenii variabile și/sau constante adiacente într-o singură moleculă de polipeptidă. Mai mult, un fragment de legare la antigen al unui anticorp poate cuprinde un homo-dimer sau hetero-dimer (sau alt multimer) al oricăreia dintre configurațiile de domenii variabile și constante enumerate mai sus în asociere non-covalentă unul cu celălalt și/ sau cu unul sau mai multe domenii V_H sau V_L monomerice (de exemplu, prin legătură(e) disulfurică).

Termenul "anticorp", așa cum este utilizat aici, include, de asemenea, anticorpi multispecifici (de exemplu, bispecifici). Un anticorp multispecific sau un fragment de legare la antigen al unui anticorp va cuprinde de obicei cel puțin două domenii variabile diferite, în care fiecare domeniu variabil este capabil să se lege în mod specific la un antigen separat sau la un epitop diferit de pe același antigen. Orice format de anticorp multispecific poate fi adaptat pentru utilizare în contextul unui anticorp sau al unui fragment de legare la antigen al unui anticorp utilizând tehnici de rutină disponibile în domeniu. De exemplu, prezenta invenție include metode care cuprind utilizarea anticorpilor bispecifici în care un braț al unei imunoglobuline este specific pentru PD-1 sau un fragment al acestuia, iar celălalt braț al imunoglobulinei este specific pentru a doua țintă terapeutică sau este conjugat la o porțiune terapeutică. Exemple de formate bispecifice care pot fi utilizate includ, fără limitare, de exemplu, formate bispecifice pe bază de scFv sau de diabody, fuziuni IgG-scFv, domeniu dublu variabil (DVD)-Ig, Quadroma, butoane în găuri, lanț ușor comun (de exemplu, lanț ușor comun cu butoane în găuri etc.), CrossMab, CrossFab, corp (SEED), fermoar cu leucină, Duobody, IgG1/IgG2, Fab cu dublă acțiune (DAF)-IgG și formate bispecifice Mab² (a se vedea, de exemplu, Klein și colab. 2012, mAbs 4:6, 1-11, și referințele citate aici, pentru o revizuire a formatelor de mai sus). Anticorpilor bispecifici pot fi, de asemenea, construiți utilizând conjugarea peptidă/acid nucleic, de exemplu, în care aminoacizii nenaturali cu reactivitate chimică ortogonală sunt utilizați pentru a genera conjugați anticorp-oligonucleotide specifici locului care apoi se autoasamblează în complexe multimerice cu compoziție, valență și geometrie definite. (A se vedea, de exemplu, Kazane și colab., J. Am. Chem. Soc. [Epub: Dec. 4, 2012]).

Anticorpilor utilizați în metodele prezentei invenții pot fi anticorpi umani. Termenul "anticorp uman", așa cum este utilizat aici, este destinat să includă anticorpi având regiuni variabile și constante derivate din secvențele de imunoglobuline ale liniei germinale umane. Anticorpilor umani pot include totuși resturi de aminoacizi necodificate de secvențele de imunoglobuline ale liniei germinale umane (de exemplu, mutații introduse prin mutagenază aleatorie sau specifică locului *in vitro* sau prin mutație somatică *in vivo*), de exemplu în CDR-uri și în special CDR3. Cu toate acestea, termenul "anticorp uman", așa cum este utilizat aici, nu este destinat să includă anticorpi în care secvențele CDR derivate din linia germinală a unei alte specii de mamifere, cum ar fi un șoarece, au fost greșate pe secvențe cadru umane.

Anticorpilor utilizați în prezenta invenție pot fi anticorpi umani recombinanți. Termenul "anticorp uman recombinant", așa cum este utilizat aici, este destinat să includă toți anticorpilor umani care sunt preparați, exprimați, creați sau izolați prin mijloace recombinante, cum ar fi anticorpilor exprimați folosind un vector de expresie recombinant transfectat într-o celulă gazdă (descriș în continuare mai jos), anticorpilor izolați dintr-o bibliotecă de anticorpi umani recombinanți, combinatori (descriși mai jos), anticorpi izolați

de la un animal (de exemplu, un șoarece) care este transgenic pentru genele imunoglobulinei umane (vezi de exemplu, Taylor și colab. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295) sau anticorpi preparați, exprimați, creați sau izolați prin orice alte mijloace care implică despicarea secvențelor genei de imunoglobuline umane la alte secvențe ADN. Astfel de anticorpi umani recombinanți au regiuni variabile și constante derivate din secvențele de imunoglobulină de linie germinală umană. În anumite exemple de realizare, totuși, astfel de anticorpi umani recombinanți sunt supuși mutagenzei *in vitro* (sau, atunci când este utilizat un animal transgenic pentru secvențe Ig umane, mutagenzei somatice *in vivo*) și astfel secvențele de aminoacizi ale regiunilor V_H și V_L ale anticorpilor recombinanți sunt secvențe care, deși derivate din și legate de secvențele V_H și V_L ale liniei germinale umane, pot să nu existe în mod natural în repertoriul liniei germinale de anticorpi umani *in vivo*.

Anticorpii utilizați în invenție se leagă în mod specific PD-1. Termenul "se leagă în mod specific" sau altele asemenea, înseamnă că un anticorp sau un fragment de legare la antigen al acestuia formează un complex cu un antigen care este relativ stabil în condiții fiziologice. Metodele pentru determinarea dacă un anticorp se leagă în mod specific la un antigen sunt bine cunoscute în domeniu și includ, de exemplu, dializa la echilibru, rezonanța plasmonului de suprafață și altele asemenea. De exemplu, un anticorp care "se leagă în mod specific" la PD-1, așa cum este utilizat în contextul prezentei invenții, include anticorpi care leagă PD-1 sau o porțiune a acestuia cu un K_D mai mic de aproximativ 500 nM, mai puțin de aproximativ 300 nM, mai puțin de aproximativ 200 nM, mai puțin de aproximativ 100 nM, mai puțin de aproximativ 90 nM, mai puțin de aproximativ 80 nM, mai puțin de aproximativ 70 nM, mai puțin de aproximativ 60 nM, mai puțin de aproximativ 50 nM, mai puțin de aproximativ 40 nM, mai puțin de aproximativ 30 nM, mai puțin de aproximativ 20 nM, mai puțin de aproximativ 10 nM, mai puțin de aproximativ 5 nM, mai puțin de aproximativ 4 nM, mai puțin de aproximativ 3 nM, mai puțin de aproximativ 2 nM, mai puțin de aproximativ 1 nM sau mai puțin de aproximativ 0,5 nM așa cum se măsoară într-un test de rezonanță plasmonică de suprafață. Un anticorp izolat care leagă în mod specific PD-1 uman poate avea, totuși, reactivitate încrucișată cu alți antigeni, cum ar fi moleculele PD-1 de la alte specii (non-umane).

Conform anumitor exemple de realizare ale prezentei invenții, anticorpusul anti-PD-1 sau fragmentul acestuia de legare la antigen cuprinde o regiune variabilă a lanțului greu (HCVR), o regiune variabilă a lanțului ușor (LCVR) și/sau regiuni determinate de complementaritate (CDR-uri).) cuprinzând oricare dintre secvențele de aminoacizi ale anticorpilor anti-PD-1, așa cum este prezentat în Publicația de brevet SUA Nr. 20150203579. În anumite exemple de realizare, anticorpusul anti-PD-1 sau fragmentul acestuia de legare la antigen care poate fi utilizat în contextul metodelor prezentei invenții cuprinde regiunile de determinare a complementarității lanțului greu (HCDR) ale unei regiuni variabile a lanțului greu (HCVR) cuprinzând secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 1 și regiunile de determinare a complementarității lanțului ușor (LCDR) ale unei regiuni variabile a lanțului ușor (LCVR) cuprinzând secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 2. În invenție, anticorpusul anti-PD-1 sau fragmentul acestuia de legare la antigen cuprinde trei HCDR-uri (HCDR1, HCDR2 și HCDR3) și trei LCDR-uri (LCDR1, LCDR2 și LCDR3), în care HCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR 3; HCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 4; HCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 5; LCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi a SEQ ID NR: 6; LCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi a SEQ ID NR: 7; și LCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi a SEQ ID NR: 8. Încă în alte variante de realizare, anticorpusul anti-PD-1 sau fragmentul acestuia de legare la antigen cuprinde un HCVR care cuprinde SEQ ID NR: 1 și un LCVR cuprinzând SEQ ID NR: 2. În anumite variante de realizare, prezenta invenție cuprinde utilizarea unui anticorp anti-PD-1, în care anticorpusul cuprinde un lanț greu care cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 9. În unele exemple de realizare, anticorpusul anti-PD-1 cuprinde un lanț ușor care cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 10. Un exemplu de anticorp care cuprinde un lanț greu care cuprinde secvența de aminoacizi a SEQ ID NR: 9 și un lanț ușor cuprinzând secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 10 este anticorpusul anti-PD-1 complet uman cunoscut ca REGN2810. Conform anumitor exemple de realizare, prezenta invenție cuprinde utilizarea REGN2810 sau un bioechivalent al acestuia. Termenul „bioechivalent”, așa cum este utilizat aici, se referă la anticorpi anti-PD-1 sau proteine de legare la PD-1 sau fragmente ale acestora care sunt echivalenți farmaceutici sau alternative farmaceutice a căror rată și/sau grad de absorbție nu prezintă o diferență semnificativă cu cel al REGN2810 atunci când este administrat în aceeași doză molară în condiții experimentale similare, fie în doză unică, fie în doză multiplă. În contextul invenției, termenul se referă la proteine de legare la antigen care se leagă la PD-1 care nu au diferențe semnificative clinic cu REGN2810 în ceea ce privește siguranța, puritatea și/sau potența lor.

Alți anticorpi anti-PD-1 care pot fi utilizați în contextul metodelor prezentei invenții includ, de exemplu, anticorpii la care se face referire și cunoscuți în domeniu ca nivolumab (US 8008449), pembrolizumab (US 8354509), MEDI0608 (US 8609089), pidilizumab (US 8686119) sau oricare dintre

anticorpilor anti-PD-1, așa cum sunt enunțați în brevetele SUA nr. 6808710, 7488802, 8168757, 8354509, 8779105 sau 8900587.

Anticorpilor anti-PD-1 utilizați în contextul metodelor din prezenta invenție pot avea caracteristici de legare dependente de pH. De exemplu, un anticorp anti-PD-1 pentru utilizare în metodele prezentei invenții poate prezenta legare redusă la PD-1 la pH acid în comparație cu pH neutru. Alternativ, un anticorp anti-PD-1 al invenției poate prezenta legare sporită la antigenul său la pH acid în comparație cu pH neutru. Expresia „pH acid” include valori ale pH-ului mai mici de aproximativ 6.2, de exemplu, aproximativ 6.0, 5.95, 5.9, 5.85, 5.8, 5.75, 5.7, 5.65, 5.6, 5.55, 5.5, 5.45, 5.5, 5.5, 5.2, 5.5, 5.3, 5.15, 5.1, 5.05, 5.0 sau mai puțin. Așa cum este utilizată aici, expresia „pH neutru” înseamnă un pH de aproximativ 7.0 până la aproximativ 7.4. Expresia „pH neutru” include valori ale pH-ului de aproximativ 7.0, 7.05, 7.1, 7.15, 7.2, 7.25, 7.3, 7.35 și 7.4.

În anumite cazuri, „legarea redusă la PD-1 la pH acid în comparație cu pH-ul neutru” este exprimată în termeni de raport dintre valoarea K_D a anticorpului care se leagă la PD-1 la pH acid și valoarea K_D a anticorpului care se leagă la PD-1 la pH neutru (sau invers). De exemplu, un anticorp sau un fragment al acestuia de legare la antigen poate fi considerat ca prezentând „legare redusă la PD-1 la pH acid în comparație cu pH neutru” în scopurile prezentei invenții, dacă anticorpul sau fragmentul de legare la antigen al acestuia prezintă un raport acid /neutru K_D de aproximativ 3.0 sau mai mare. În anumite exemple de realizare, raportul K_D acid/neutru pentru un anticorp sau un fragment de legare la antigen al prezentei invenții poate fi de aproximativ 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.0, 10.5, 11.0, 11.5, 12.0, 12.5, 13.0, 13.5, 14.0, 14.5, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0, 40.0, 50.0, 60.0, 70.0, 100.0 sau mai mare.

Anticorpilor cu caracteristici de legare dependente de pH pot fi obținuți, de exemplu, prin screening-ul unei populații de anticorpi pentru legarea redusă (sau îmbunătățită) la un anumit antigen la pH acid în comparație cu pH neutru. În plus, modificările domeniului de legare a antigenului la nivelul aminoacizilor pot produce anticorpi cu caracteristici dependente de pH. De exemplu, prin substituirea unui sau mai multor aminoacizi ai unui domeniu de legare a antigenului (de exemplu, într-un CDR) cu un rest de histidină, se poate obține un anticorp cu legare de antigen redusă la pH acid relativ la pH neutru. Așa cum este utilizată aici, expresia „pH acid” înseamnă un pH de 6.0 sau mai mic.

Anticorpi Bispecifici Anti-CD20/anti-CD3

Prezenta invenție cuprinde administrarea unei cantități eficiente terapeutic dintr-un anticorp bispecific care leagă în mod specific CD3 și CD20. Astfel de anticorpi pot fi denumiți aici, de exemplu, anticorpi bispecifici „anti-CD20/anti-CD3” sau „anti-CD20xCD3” sau „CD20xCD3” sau altă terminologie similară.

Așa cum este utilizată aici, expresia „anticorp bispecific” se referă la o proteină de imunoglobulină care cuprinde cel puțin un prim domeniu de legare la antigen și un al doilea domeniu de legare la antigen. În contextul prezentei invenții, primul domeniu de legare la antigen se leagă în mod specific la un prim antigen (de exemplu, CD20), iar al doilea domeniu de legare la antigen se leagă în mod specific la un al doilea antigen distinct (de exemplu, CD3). Fiecare domeniu de legare la antigen al unui anticorp bispecific cuprinde un domeniu variabil al lanțului greu (HCVR) și un domeniu variabil al lanțului ușor (LCVR), fiecare cuprinzând trei CDR-uri. În contextul unui anticorp bispecific, CDR-urile primului domeniu de legare la antigen pot fi desemnate cu prefixul „A” iar CDR-urile celui de-al doilea domeniu de legare la antigen pot fi desemnate cu prefixul „B”. Astfel, CDR-urile primului domeniu de legare la antigen pot fi denumite aici A-HCDR1, A-HCDR2 și A-HCDR3; și CDR-urile celui de-al doilea domeniu de legare la antigen pot fi denumite aici B-HCDR1, B-HCDR2 și B-HCDR3.

Primul domeniu de legare a antigenului și al doilea domeniu de legare a antigenului sunt fiecare conectat separat la un domeniu de multimerizare. După cum este utilizat aici, un „domeniu de multimerizare” este orice macromoleculă, proteină, polipeptidă, peptidă sau aminoacid care are capacitatea de a se asocia cu un al doilea domeniu de multimerizare cu aceeași structură sau constituție sau similară. În contextul prezentei invenții, componenta de multimerizare este o porțiune Fc a unei imunoglobuline (cuprinzând un domeniu C_H2-C_H3), de exemplu, un domeniu Fc al unei IgG selectate dintre izotipurile IgG1, IgG2, IgG3 și IgG4, de asemenea ca orice alotip din cadrul fiecărui grup de izotip.

Anticorpilor bispecifici cuprind în mod obișnuit două domenii de multimerizare, de exemplu, două domenii Fc care sunt fiecare parte individuală a unui lanț greu de anticorp separat. Primul și al doilea domeniu de multimerizare pot fi de același izotip IgG, cum ar fi, de exemplu, IgG1/IgG1, IgG2/IgG2, IgG4/IgG4. Alternativ, primul și al doilea domeniu de multimerizare pot fi de izotipuri IgG diferite, cum ar fi, de exemplu, IgG1/IgG2, IgG1/IgG4, IgG2/IgG4 etc.

Orice format sau tehnologie de anticorp bispecific poate fi utilizat pentru a produce moleculele bispecifice de legare a antigenului. De exemplu, un anticorp sau fragment al acestuia având o primă

specificitate de legare la antigen poate fi legat funcțional (de exemplu, prin cuplare chimică, fuziune genetică, asociere necovalentă sau altfel) la una sau mai multe alte entități moleculare, cum ar fi un alt anticorp sau fragment de anticorp având o a doua specificitate de legare a antigenului pentru a produce o moleculă bispecifică de legare a antigenului. Formatele bispecifice exemplificative specifice care pot fi

5 utilizate includ, fără limitare, de exemplu, formate bispecifice pe bază de scFv sau diabody, fuziuni IgG-scFv, domeniu dublu variabil (DVD)-Ig, Quadroma, butoane-în- găuri, lanț ușor comun (de exemplu, lanț ușor comun cu butoane în găuri etc.), CrossMab, CrossFab, (SEED)body, fermoar cu leucină, Duobody, IgG1/IgG2, formate cu dublă acțiune Fab (DAF)-IgG și formate bispecifice Mab² (vezi, de exemplu, Klein și colab. 2012, mAbs 4:6, 1-11 și referințele citate aici, pentru o revizuire a formatelor de mai sus).

10 În contextul anticorpilor bispecfici, domeniile Fc pot cuprinde una sau mai multe modificări de aminoacizi (de exemplu, inserții, ștergeri sau substituții) în comparație cu versiunea naturală a domeniului Fc de tip sălbatic. De exemplu, invenția include molecule bispecifice de legare a antigenului cuprinzând una sau mai multe modificări în domeniul Fc care are ca rezultat un domeniu Fc modificat având o interacțiune de legare modificată (de exemplu, îmbunătățită sau diminuată) între Fc și FcRn. Într-o

15 variantă de realizare, molecula bispecifică de legare a antigenului cuprinde o modificare într-o regiune C_H2 sau C_H3, în care modificarea crește afinitatea domeniului Fc pentru FcRn într-un mediu acid (de exemplu, într-un endozom în care pH-ul variază de la aproximativ 5,5 la aproximativ 6,0). Exemple nelimitative de astfel de modificări Fc sunt deezvăluite în publicația de brevet SUA nr. 20150266966.

Prezenta invenție se referă, de asemenea, la anticorpi bispecfici cuprinzând un prim domeniu

20 C_H3 și un al doilea domeniu Ig C_H3, în care primul și al doilea domeniu Ig C_H3 diferă unul de celălalt prin cel puțin un aminoacid și în care cel puțin o diferență de aminoacid reduce legarea anticorp bispecific la Proteina A în comparație cu un anticorp bispecific lipsit de diferența de aminoacizi. Într-o variantă de realizare, primul domeniu Ig C_H3 se leagă la proteina A, iar al doilea domeniu Ig C_H3 conține o mutație care reduce sau elimină legarea proteinei A, cum ar fi o modificare H95R (prin numerotarea exonului

25 IMGT; H435R prin numerotarea EU). Al doilea C_H3 poate cuprinde în plus o modificare Y96F (prin IMGT; Y436F de către EU). Alte modificări care pot fi găsite în al doilea C_H3 includ: D16E, L18M, N44S, K52N, V57M și V82I (de către IMGT; D356E, L358M, N384S, K392N, V397M și V422I de către UE) în cazul anticorpilor IgG1; N44S, K52N și V82I (IMGT; N384S, K392N și V422I de către UE) în cazul anticorpilor IgG2; și Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q și V82I (de IMGT; Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q și V422I de UE) în cazul anticorpilor IgG4.

În anumite realizări, domeniul Fc poate fi himeric, combinând secvențe Fc derivate din mai mult de un izotip de imunoglobulină. De exemplu, un domeniu Fc himeric poate cuprinde o parte sau întreaga

35 secvență C_H2 derivată dintr-o regiune C_H2 umană IgG1, IgG2 umană sau IgG4 umană și o parte sau toată secvența C_H3 derivată dintr-o IgG1 umană, IgG2 umană sau IgG4 umană. Un domeniu Fc himeric poate conține, de asemenea, o regiune balama himerică. De exemplu, o balama himerică poate cuprinde o secvență de „balama superioară”, derivată dintr-un IgG1 uman, un IgG2 uman sau o regiune balama IgG4 umană, combinată cu o secvență „balama inferioară”, derivată dintr-un IgG1 uman, un IgG2 uman sau o regiune balama IgG4 umană. Un exemplu particular de domeniu Fc himeric care poate fi inclus în oricare

40 dintre moleculele de legare la antigen prezentate aici cuprinde, de la N- la C-terminal: [IgG4 C_H1] - [balama superioară IgG4] - [balama inferioară IgG2] - [IgG4 C_H2] - [IgG4 C_H3]. Un alt exemplu de domeniu himeric Fc care poate fi inclus în oricare dintre moleculele de legare la antigen prezentate aici cuprinde, de la N- la C-terminal: [IgG1 C_H1] - [balama superioară IgG1] - [balama inferioară IgG2] - [IgG4 C_H2] - [IgG1 C_H3]. Acestea și alte exemple de domenii Fc himerice care pot fi incluse în oricare

45 dintre moleculele de legare a antigenului din prezenta invenție sunt descrise în publicația de brevet US Nr. 20140243504. Domeniile Fc himerice având aceste aranjamente structurale generale și variante ale acestora pot avea legarea modificată la receptorul Fc, care la rândul său afectează funcția efector Fc.

Conform anumitor exemple de realizare ale prezentei invenții, anticorpii bispecfici anti-CD20/anti-CD3 sau fragmentul de legare la antigen al acestuia cuprinde regiuni variabile de lanț greu (A-HCVR și B-HCVR), regiunea variabilă de lanț ușor (LCVR), și/sau regiuni de determinare a

50 complementarității (CDR) care cuprind oricare dintre secvențele de aminoacizi ale anticorpilor bispecfici anti-CD20/anti-CD3, așa cum este prezentat în Publicația de brevet US Nr. 20150266966. În anumite exemple de realizare, anticorpii bispecfici anti-CD20/anti-CD3 sau fragmentul acestuia de legare la antigen care poate fi utilizat în contextul metodelor din prezenta invenție cuprinde: (a) un prim braț de legare a antigenului care cuprinde regiuni de determinare a complementarității lanțului greu (A-HCDR1,

55 A-HCDR2 și A-HCDR3) ale unei regiuni variabile de lanț greu (A-HCVR) cuprinzând secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 11 și regiunile de determinare a complementarității lanțului ușor (LCDR) ale unei regiuni variabile a lanțului ușor (LCVR) cuprinzând secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 12; și (b) un al doilea braț de legare a antigenului cuprinzând CDR-urile cu lanț greu (B-HCDR1, B-HCDR2 și B-HCDR3) ale unui HCVR (B-HCVR) care cuprinde secvența de aminoacizi a SEQ ID NR: 13 și CDR-

uri de lanț ușor ale unui LCVR cuprinzând secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 12. În invenție, A-HCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 14; A-HCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 15; A-HCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 16; LCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 17; LCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 18; LCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 19; B-HCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 20; B-HCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 21; și B-HCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 22. În încă alte realizări, anticorpii bispecifici anti-CD20/anti-CD3 sau fragmentul de legare la antigen al acestuia cuprinde: (a) un prim braț de legare a antigenului care cuprinde un HCVR (A-HCVR) cuprinzând SEQ ID NR: 11 și un LCVR cuprinzând SEQ ID NR: 12; și (b) un al doilea braț de legare a antigenului care cuprinde un HCVR (B-HCVR) cuprinzând SEQ ID NR: 13 și un LCVR cuprinzând SEQ ID NR: 12.

Alți anticorpi anti-CD20/anti-CD3 bispecifici care pot fi utilizați în contextul metodelor prezentei invenții includ, de exemplu, oricare dintre anticorpilor, așa cum sunt enunțați în publicația de brevet SUA nr. 20140088295 și 20150166661.

Terapii combinate

Prezenta invenție, în conformitate cu anumite exemple de realizare, cuprind administrarea subiectului a unui anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 în combinație cu un anticorp anti-PD-1. În anumite exemple de realizare, prezenta invenție cuprinde administrarea anticorpilor pentru activitate aditivă sau sinergică pentru a trata cancerul, de preferință un cancer hem, mai preferabil, un cancer cu celule B (de exemplu, limfom non-Hodgkin sau leucemie limfoblastică acută). Așa cum este utilizată aici, expresia "în combinație cu" înseamnă că anticorpii bispecifici anti-CD20/anti-CD3 este administrat înainte, după sau concomitent cu anticorpii anti-PD-1. Termenul „în combinație cu” include, de asemenea, administrarea secvențială sau concomitentă a anticorpului anti-PD-1 și a unui anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3. De exemplu, atunci când este administrat „înainte” de anticorpii bispecifici anti-CD20/anti-CD3, anticorpii anti-PD-1 poate fi administrat mai mult de 150 de ore, aproximativ 150 de ore, aproximativ 100 de ore, aproximativ 72 de ore, aproximativ 60 de ore, aproximativ 48 de ore, aproximativ 36 de ore, aproximativ 24 de ore, aproximativ 12 ore, aproximativ 10 ore, aproximativ 8 ore, aproximativ 6 ore, aproximativ 4 ore, aproximativ 2 ore, aproximativ 1 ora, aproximativ 30 de minute, aproximativ 15 minute sau aproximativ 10 minute înainte de administrarea anticorpului bispecific anti-CD20/anti-CD3. Când este administrat „după” anticorpii bispecifici anti-CD20/anti-CD3, anticorpii anti-PD-1 poate fi administrat aproximativ 10 minute, aproximativ 15 minute, aproximativ 30 minute, aproximativ 1 oră, aproximativ 2 ore, aproximativ 4 ore, aproximativ 6 ore, aproximativ 8 ore, aproximativ 10 ore, aproximativ 12 ore, aproximativ 24 ore, aproximativ 36 ore, aproximativ 48 ore, aproximativ 60 ore, aproximativ 72 ore sau la mai mult de 72 de ore după administrarea anti-CD20 / anti-CD3 anticorp bispecific. Administrarea „concomitentă” cu anticorpii bispecifici anti-CD20/anti-CD3 înseamnă că anticorpii anti-PD-1 este administrat subiectului într-o formă de dozare separată în mai puțin de 5 minute (înainte, după sau în același timp) de administrare a anticorpului bispecific anti-CD20/anti-CD3, sau administrat subiectului ca o singură formulare de dozare combinată cuprinzând atât anticorpii anti-PD-1, cât și anticorpii bispecifici anti-CD20/anti-CD3.

În anumite exemple de realizare, prezenta invenție cuprinde administrarea unui al treilea agent terapeutic în care al treilea agent terapeutic este un medicament anti-cancer. Așa cum este utilizat aici, „medicament anti-cancer” înseamnă orice agent util pentru tratarea cancerului incluzând, dar fără a se limita la, citotoxine și agenți cum ar fi antimetaboliți, agenți de alchilare, antracicline, antibiotice, agenți antimetotici, procarbazine, hidroxiuree, asparaginaza, corticosteroizi, mitotan (O.P'-(DDD)), biologice (de exemplu, anticorpi și interferoni) și agenți radioactivi. Așa cum este utilizat aici, "o citotoxină sau agent citotoxic", se referă de asemenea la un agent chimioterapeutic și înseamnă orice agent care este dăunător celulelor. Exemplele includ Taxol® (paclitaxel), temozolamidă, citocalazina B, gramicidina D, bromură de etidium, emetină, cisplatină, mitomicina, etoposidă, tenopozidă, vincristină, vinblastină, coichicină, doxorubicină, daunorubicină, dihidroxi antracina dionă, mitramicină dionă, mitramicină, actinomicina D, 1-dehidrotestosteron, glucocorticoizi, procaină, tetracaină, lidocaină, propranolol și puomicina și analogi sau omologi ai acestora.

În anumite exemple de realizare, prezenta invenție cuprinde administrarea unui al treilea agent terapeutic selectat din grupul constând din radiații, intervenții chirurgicale, un vaccin împotriva cancerului, un inhibitor PD-L1 (de exemplu, un anticorp anti-PD-L1), un inhibitor LAG-3, un inhibitor CTLA-4 (de exemplu, ipilimumab), un inhibitor TIM3, un inhibitor BTLA, un inhibitor TIGIT, un inhibitor CD47, un antagonist al altui co-inhibitor sau ligand al celulelor T (de exemplu, un anticorp la CD-28, 2B4, LY108, LAI R1, ICOS, CD160 sau VISTA), un inhibitor al indoleamin-2,3-dioxygenazei

(IDO), un antagonist al factorului de creștere endotelial vascular (VEGF) [de exemplu, o „capcană VEGF”, cum ar fi ca aflibercept sau altă proteină de fuziune care inhibă VEGF așa cum este prezentată în US 7.087.411, sau un anticorp anti-VEGF sau un fragment de legare la antigen al acestuia (de exemplu, bevacizumab sau ranibizumab) sau un inhibitor de kinază cu moleculă mică al receptorului VEGF (de exemplu, sunitinib, sorafenib sau pazopanib)], un inhibitor Ang2 (de exemplu, nesvacumab), un inhibitor al factorului de creștere transformant beta (TGFβ), un inhibitor al receptorului factorului de creștere epidermic (EGFR) (de exemplu, erlotinib, cetuximab), un agonist al unui co-receptor stimulator {de exemplu, un agonist al proteinei înrudite cu TNFR indusă de glucocorticoizi}, un anticorp la un antigen specific tumorii {de exemplu, CA9, CA125, antigenul 3 asociat melanomului (MAGE3), un antigen carcinoembrionar (CEA), vimentină, tumoră-M2-PK, antigen specific de prostată (PSA), mucin-1, MART-1 și CA19-9), un vaccin (de exemplu, Bacilul Calmette-Guerin, un vaccin împotriva cancerului), un adjuvant pentru creșterea prezentării antigenului (de exemplu, factor de stimulare a coloniilor de granulocite-macrofage), o citotoxină, un agent chimioterapeutic (de exemplu, dacarbazină, temozolomidă, ciclofosamidă, docetaxel, doxorubicină, daunorubicină, cisplatină, carboplatină, gemcitabină, metotrexat, mitoxantronă, oxaliplatină, paclitaxel și vincristină), radioterapie, un inhibitor de IL-6R (de exemplu, sarilumab), un inhibitor de IL-4R (de exemplu, dupilumab), un inhibitor de IL-10, o citokină cum ar fi IL-2, IL-7, IL-21 și IL-15, un conjugat anticorp-medicament (ADC) {de exemplu, anti-CD19-DM4 ADC și anti-DS6-DM4 ADC}, celule T himerice receptor de antigen {de exemplu, celule T țintite CD19}, un medicament antiinflamator (de exemplu, corticosteroizi și medicamente antiinflamatoare nesteroidiene) și un supliment alimentar, cum ar fi antioxidanți.

În anumite exemple de realizare, invenția cuprinde administrarea unui anticorp anti-PD-1 și a unui anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 în combinație cu radioterapie pentru a genera răspunsuri anti-tumorale durabile pe termen lung și/sau pentru a îmbunătăți supraviețuirea pacienților cu cancer. În unele variante de realizare, invenția cuprinde administrarea radioterapiei înainte de, concomitent sau după administrarea unui anticorp anti-PD-1 și a unui anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 la un pacient cu cancer. De exemplu, radioterapia poate fi administrată în una sau mai multe doze la leziunile tumorale după administrarea uneia sau mai multor doze de anticorpi. În unele exemple de realizare, radioterapia poate fi administrată local unei leziuni tumorale pentru a spori imunogenitatea locală a tumorii unui pacient (radiații adjuvante) și/sau pentru a distruge celulele tumorale (radiații ablative) după administrarea sistemică a unui anticorp anti-PD-1 și /sau un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3. În anumite realizări, anticorpii pot fi administrați în combinație cu radioterapie și un agent chimioterapeutic (de exemplu, temozolomidă sau ciclofosamidă) sau un antagonist VEGF (de exemplu, aflibercept).

Compoziții Farmaceutice și Administrare

Prezenta invenție include metode care cuprind administrarea unui anticorp anti-PD-1 în combinație cu un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 la un subiect în care anticorpii sunt conținuți într-o compoziție farmaceutică separată sau combinată (unică). Compozițiile farmaceutice ale invenției pot fi formulate cu purtători adecvați, excipienți și alți agenți care asigură transferul, livrarea, toleranța și altele asemenea adecvate. O multitudine de formulări adecvate pot fi găsite în formularul cunoscut de toți chimiștii farmaceutici: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Aceste formulări includ, de exemplu, pulberi, paste, unguente, jeleuri, ceară, uleiuri, lipide, vezicule care conțin lipide (cationice sau anionice) (cum ar fi LIPOFECTIN™), conjugăți ADN, paste de absorbție anhidre, emulsii ulei-în-apă și apă-în-ulei, emulsii carbowax (polietilenglicoli de diferite greutate moleculare), geluri semi-solide și amestecuri semi-solide care conțin carbowax. Vezi, de asemenea, Powell și colab. " Compendiu de excipienți pentru formulări parenterale" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

Sunt cunoscute diferite sisteme de livrare și pot fi utilizate pentru a administra compoziția farmaceutică a invenției, de exemplu, încapsularea în lipozomi, microparticule, microcapsule, celule recombinante capabile să exprime virusurile mutante, endocitoza mediată de receptor (vezi, de exemplu, Wu și colab., 1987, J. Biol. Chim. 262: 4429-4432). Metodele de administrare includ, dar nu se limitează la, căile intradermice, intramusculare, intraperitoneale, intravenoase, subcutanate, intranasale, epidurale și orale. Compoziția poate fi administrată pe orice cale convenabilă, de exemplu prin perfuzie sau injectare în bolus, prin absorbție prin căptușeli epiteliale sau mucocutanate (de exemplu, mucoasa bucală, mucoasa rectală și intestinală, etc.) și poate fi administrată împreună cu alți agenți biologic activi.

O compoziție farmaceutică poate fi administrată subcutanat sau intravenos cu un ac standard și o seringă. În plus, în ceea ce privește livrarea subcutanată, un dispozitiv de livrare a stiloului injector (pen) are cu ușurință aplicații în furnizarea unei compoziții farmaceutice a prezentei invenții. Un astfel de dispozitiv de livrare stilou injector (pen) poate fi reutilizabil sau de unică folosință. Un dispozitiv de livrare stilou reutilizabil utilizează în general un cartuș înlocuibil care conține o compoziție farmaceutică.

Odată ce toată compoziția farmaceutică din cartuș a fost administrată și cartușul este gol, cartușul gol poate fi aruncat cu ușurință și înlocuit cu un cartuș nou care conține compoziție farmaceutică. Dispozitivul de livrare stilou poate fi apoi reutilizat. Într-un dispozitiv de livrare stilou injector (pen) de unică folosință, nu există un cartuș înlocuibil. Mai degrabă, dispozitivul de livrare stilou injector (pen) de unică folosință vine pre-umplut cu compoziția farmaceutică menținută într-un rezervor în interiorul dispozitivului. Odată ce rezervorul este golit de compoziția farmaceutică, întregul dispozitiv este aruncat.

În anumite situații, compoziția farmaceutică poate fi eliberată într-un sistem de eliberare controlată. Într-o variantă de realizare, poate fi utilizată o pompă. Într-un alt exemplu de realizare, pot fi utilizate materiale polimerice; vezi, *Medical Applications of Controlled Release*, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida. Într-un alt exemplu de realizare, un sistem cu eliberare controlată poate fi plasat în apropierea țintei compoziției, necesitând astfel doar o fracțiune din doza sistemică (vezi, de exemplu, Goodson, 1984, în *Medical Applications of Controlled Release*, supra, voi. 2, pp. 115-138). Alte sisteme de eliberare controlată sunt discutate în recenzia lui Langer, 1990, *Science* 249: 1527-1533.

Preparatele injectabile pot include forme de dozare pentru injecții intravenoase, subcutanate, intracutanate și intramusculare, perfuzii prin picurare etc. Aceste preparate injectabile pot fi preparate prin metode cunoscute. De exemplu, preparatele injectabile pot fi preparate, de exemplu, prin dizolvarea, suspendarea sau emulsionarea anticorpului sau a sării sale descrise mai sus într-un mediu apos steril sau într-un mediu uleios utilizat în mod convențional pentru injecții. Ca mediu apos pentru injecții, există, de exemplu, soluție salină fiziologică, o soluție izotonă care conține glucoză și alți agenți auxiliari, etc., care pot fi utilizați în combinație cu un agent de solubilizare adecvat, cum ar fi un alcool (de exemplu, etanol), un polialcool (de exemplu, propilen glicol, polietilen glicol), un surfactant nonionic [de exemplu, polisorbitat 80, HCO-50 (aduct polioxietilen (50 mol) de ulei de ricin hidrogenat)] etc. Ca mediu uleios, se folosesc, de exemplu, ulei de susan, ulei de soia, etc., care pot fi utilizate în combinație cu un agent de solubilizare cum ar fi benzoat de benzil, alcool benzilic etc. Injecția astfel preparată este de preferință umplută într-o fiolă adecvată.

În mod avantajos, compozițiile farmaceutice pentru utilizare orală sau parenterală descrise mai sus sunt preparate în forme de dozare într-o doză unitară adecvată pentru a se potrivi unei doze de ingrediente active. Astfel de forme de dozare într-o doză unitară includ, de exemplu, tablete, pastile, capsule, injecții (fiole), supozitoare etc.

Regimuri de administrare

Prezenta invenție poate cuprinde administrarea unui subiect a unui anticorp anti-PD-1 la o frecvență de dozare de aproximativ patru ori pe săptămână, de două ori pe săptămână, o dată pe săptămână, o dată la două săptămâni, o dată la trei săptămâni, o dată la patru săptămâni, o dată la cinci săptămâni, o dată la șase săptămâni, o dată la opt săptămâni, o dată la douăsprezece săptămâni sau mai puțin frecvent atâta timp cât se obține un răspuns terapeutic. În anumite exemple de realizare, prezenta invenție cuprinde administrarea unui subiect a unui anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 la o frecvență de dozare de aproximativ patru ori pe săptămână, de două ori pe săptămână, o dată pe săptămână, o dată la două săptămâni, o dată la fiecare trei săptămâni, o dată la patru săptămâni, o dată la cinci săptămâni, o dată la șase săptămâni, o dată la opt săptămâni, o dată la douăsprezece săptămâni sau mai puțin frecvent atâta timp cât se obține un răspuns terapeutic. În anumite realizări, invenția implică administrarea unui anticorp anti-PD-1 în combinație cu un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 la o frecvență de dozare de aproximativ patru ori pe săptămână, de două ori pe săptămână, o dată pe săptămână, o dată la fiecare două săptămâni, o dată la trei săptămâni, o dată la patru săptămâni, o dată la cinci săptămâni, o dată la șase săptămâni, o dată la opt săptămâni, o dată la nouă săptămâni, o dată la douăsprezece săptămâni sau mai puțin frecvent atâta timp cât se obține un răspuns terapeutic.

Conform anumitor realizări ale prezentei invenții, doze multiple de anticorp anti-PD-1 în combinație cu un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 pot fi administrate unui subiect pe o perioadă de timp definită. Invenția poate cuprinde secvențial administrarea unui subiect a uneia sau mai multor doze de anticorp anti-PD-1 în combinație cu una sau mai multe doze de anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3. Așa cum este utilizat aici, "administrarea secvențială" înseamnă că fiecare doză de anticorp este administrată subiectului la un moment diferit de timp, de exemplu, în zile diferite separate printr-un interval predeterminat (de exemplu, ore, zile, săptămâni sau luni). Prezenta invenție include metode care cuprind administrarea secvențială la pacient a unei singure doze inițiale de anticorp anti-PD-1, urmată de una sau mai multe doze secundare de anticorp anti-PD-1 și, opțional, urmată de una sau mai multe doze terțiare a anticorpului anti-PD-1. În anumite exemple de realizare, invenția mai cuprinde administrarea secvențială la pacient a unei singure doze inițiale de anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3, urmată de una sau mai multe doze secundare de anticorp bispecific și, opțional, urmată de una sau mai multe doze terțiare a anticorpului bispecific.

Conform anumitor realizări ale prezentei invenții, doze multiple de un anticorp anti-PD-1 și un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 pot fi administrate unui subiect pe o perioadă de timp definită. Acest aspect al invenției cuprinde administrarea secvențială la un subiect de doze multiple de anticorp anti-PD-1 și anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3. Așa cum este utilizat aici, „administrarea secvențială” înseamnă că fiecare doză de anticorp anti-PD-1 în combinație cu anticorpii bispecifici este administrată subiectului la un moment diferit de timp, de exemplu, în zile diferite separate printr-un interval predeterminat (de ex. , ore, zile, săptămâni sau luni).

Termenii "doză inițială", "doze secundare" și "doze terțiare" se referă la secvența temporală de administrare. Astfel, "doza inițială" este doza care este administrată la începutul regimului de tratament (denumită și "doză de bază"); "dozele secundare" sunt dozele care sunt administrate după doza inițială; iar "dozele terțiare" sunt dozele care sunt administrate după dozele secundare. Dozele inițiale, secundare și terțiare pot conține toate aceleași cantități de anticorp (anticorp anti-PD-1 sau anticorp bispecific). În anumite exemple de realizare, totuși, cantitatea conținută în dozele inițiale, secundare și/sau terțiare variază una de la alta (de exemplu, ajustată în sus sau în jos după caz) în timpul tratamentului. În anumite variante de realizare, una sau mai multe (de exemplu, 1, 2, 3, 4 sau 5) doze sunt administrate la începutul regimului de tratament ca „doze de încărcare” urmate de doze ulterioare care sunt administrate pe o bază mai puțin frecventă (de ex. , „doze de întreținere”). De exemplu, un anticorp anti-PD-1 poate fi administrat unui pacient cu cancer cu celule B la o doză de încărcare de aproximativ 1 - 3 mg/kg urmată de una sau mai multe doze de întreținere de aproximativ 0,1 până la aproximativ 20 mg/kg. a greutateii corporale a pacientului.

Într-un exemplu de realizare a prezentei invenții, fiecare doză secundară și/sau terțiară este administrată de la $\frac{1}{2}$ la 14 (de exemplu, $\frac{1}{2}$, 1, $1\frac{1}{2}$, 2, $2\frac{1}{2}$, 3, $3\frac{1}{2}$, 4, $4\frac{1}{2}$, 5, $5\frac{1}{2}$, 6, $6\frac{1}{2}$, 7, $7\frac{1}{2}$, 8, $8\frac{1}{2}$, 9, $9\frac{1}{2}$, 10, $10\frac{1}{2}$, 11, $11\frac{1}{2}$, 12, $12\frac{1}{2}$, 13, $13\frac{1}{2}$, 14, $14\frac{1}{2}$ sau mai multe) săptămâni după doza imediat anterioară. Expresia "doza imediat anterioară", așa cum este utilizată aici, înseamnă, într-o secvență de administrări multiple, doza de anticorp anti-PD-1 (și/sau anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3) care este administrată unui pacient înainte de administrarea dozei următoare în secvența fără doze intermediare.

Invenția poate cuprinde administrarea unui pacient a oricărui număr de doze secundare și/sau terțiare de anticorp anti-PD-1 (și/sau anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3). De exemplu, în anumite variante de realizare, pacientului i se administrează doar o singură doză secundară. În alte variante de realizare, două sau mai multe (de exemplu, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 sau mai multe) doze secundare sunt administrate pacientului. De asemenea, în anumite exemple de realizare, pacientului i se administrează doar o singură doză terțiară. În alte variante de realizare, două sau mai multe (de exemplu, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 sau mai multe) doze terțiare sunt administrate pacientului.

În exemplele de realizare care implică doze secundare multiple, fiecare doză secundară poate fi administrată la aceeași frecvență ca și celelalte doze secundare. De exemplu, fiecare doză secundară poate fi administrată pacientului la 1 până la 2 săptămâni după doza imediat anterioară. În mod similar, în exemplele de realizare care implică mai multe doze terțiare, fiecare doză terțiară poate fi administrată la aceeași frecvență ca și celelalte doze terțiare. De exemplu, fiecare doză terțiară poate fi administrată pacientului la 2 până la 4 săptămâni după doza imediat anterioară. Alternativ, frecvența la care dozele secundare și/sau terțiare sunt administrate unui pacient poate varia pe parcursul regimului de tratament. Frecvența de administrare poate fi, de asemenea, ajustată în timpul tratamentului de către un medic, în funcție de nevoile pacientului individual după examenul clinic.

În anumite realizări, una sau mai multe doze dintr-un anticorp anti-PD-1 și/sau un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 sunt administrate la începutul unui regim de tratament ca „doze de inducție” pe o bază mai frecventă (de două ori pe săptămână, o dată pe săptămână sau o dată la 2 săptămâni) urmată de doze ulterioare („doze de consolidare” sau „doze de întreținere”) care sunt administrate mai puțin frecvent (de exemplu, o dată la 4 - 12 săptămâni).

Prezenta invenție include metode care cuprind administrarea secvențială a unui anticorp anti-PD-1 în combinație cu un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3, la un pacient pentru a trata un cancer cu celule B (de exemplu, limfom non-Hodgkin, leucemie limfoblastică acută). În invenție, cancerul cu celule B nu este un limfom non-Hodgkin. În anumite variante de realizare, prezentele metode cuprind administrarea unei singure doze sau a mai multor doze de anticorp anti-PD-1 urmată de una sau mai multe doze de anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3. În unele exemple de realizare, prezentele metode cuprind administrarea unei singure doze de anticorp anti-PD-1 urmate de una sau mai multe doze de anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3. În unele aspecte, una sau mai multe doze de aproximativ 0,1 mg/kg până la aproximativ 20 mg/kg de anticorp anti-PD-1 pot fi administrate urmate de una sau mai multe doze de aproximativ 0,1 mg/kg până la aproximativ 10 mg/kg de anticorp bispecific pentru a inhiba creșterea tumorii și/sau pentru a preveni reapariția tumorii la un subiect cu un cancer cu celule B. În unele exemple de realizare, anticorpii anti-PD-1 este administrat la una sau mai multe doze urmate de una sau

mai multe doze de anticorp bispecific, rezultând o eficacitate anti-tumorală crescută (de exemplu, o inhibare mai mare a creșterii tumorii, prevenirea crescută a recidivei tumorii prin comparație cu un subiect netratat sau cu un subiect cărui i s-a administrat oricare anticorp ca monoterapie). Realizările alternative ale invenției se referă la administrarea concomitentă a anticorpului anti-PD-1 și a anticorpului bispecific care este administrat la o doză separată la o frecvență similară sau diferită față de anticorpul anti-PD-1. În unele realizări, anticorpul bispecific este administrat înainte, după sau concomitent cu anticorpul anti-PD-1. În anumite realizări, anticorpul bispecific este administrat ca o formulare de doză unică cu anticorpul anti-PD-1.

Dozare

Cantitatea de anticorp anti-PD-1 și/sau anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 administrată unui subiect conform prezentei invenții este, în general, o cantitate eficientă terapeutică. Așa cum este utilizată aici, expresia „cantitate eficientă terapeutică” înseamnă o cantitate de anticorp (anticorp anti-PD-1 sau anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3) care are ca rezultat una sau mai multe dintre: (a) o reducere a severității sau durată unui simptom al unui cancer cu celule B; (b) inhibarea creșterii tumorii sau o creștere a necrozei tumorale, a micșorării tumorii și/sau a dispariției tumorii; (c) întârzierea creșterii și dezvoltării tumorii; (d) inhibarea sau întârzierea sau oprirea metastazelor tumorale; (e) prevenirea reapariției creșterii tumorii; (f) creșterea supraviețuirii unui subiect cu cancer cu celule B; și/sau (g) o reducere a utilizării sau nevoii de terapie convențională anticancer (de exemplu, utilizarea redusă sau eliminată a agenților chimioteraputici sau citotoxici) în comparație cu un subiect netratat sau un subiect cărui i s-a administrat oricare anticorp ca monoterapie.

În cazul unui anticorp anti-PD-1, o cantitate eficientă terapeutică poate fi de la aproximativ 0,05 mg până la aproximativ 600 mg, de exemplu, aproximativ 0,05 mg, aproximativ 0,1 mg, aproximativ 1,0 mg, aproximativ 1,5 mg, aproximativ 2,0 mg, aproximativ 10 mg, aproximativ 20 mg, aproximativ 30 mg, aproximativ 40 mg, aproximativ 50 mg, aproximativ 60 mg, aproximativ 70 mg, aproximativ 80 mg, aproximativ 90 mg, aproximativ 100 mg, aproximativ 110 mg, aproximativ 120 mg, aproximativ 130 mg, aproximativ 140 mg, aproximativ 150 mg, aproximativ 160 mg, aproximativ 170 mg, aproximativ 180 mg, aproximativ 190 mg, aproximativ 200 mg, aproximativ 210 mg, aproximativ 220 mg, aproximativ 230 mg, aproximativ 240 mg, aproximativ 250 mg, aproximativ 260 mg, aproximativ 270 mg, aproximativ 280 mg, aproximativ 290 mg, aproximativ 300 mg, aproximativ 310 mg, aproximativ 320 mg, aproximativ 330 mg, aproximativ 340 mg, aproximativ 350 mg, aproximativ 360 mg, aproximativ 370 mg, aproximativ 380 mg, aproximativ 390 mg, aproximativ 400 mg, aproximativ 410 mg, aproximativ 420 mg, aproximativ 430 mg, aproximativ 440 mg, aproximativ 450 mg, aproximativ 460 mg, aproximativ 470 mg, aproximativ 480 mg, aproximativ 490 mg, aproximativ 500 mg, aproximativ 510 mg, aproximativ 520 mg, aproximativ 530 mg, aproximativ 540 mg, aproximativ 550 mg, aproximativ 560 mg, aproximativ 570 mg, aproximativ 580 mg, aproximativ 590 mg sau aproximativ 600 mg de anticorp anti-PD-1. În anumite realizări, se administrează 250 mg dintr-un anticorp anti-PD-1. În invenție, fiecare doză de anticorp anti-PD-1 cuprinde 0,1 până la 20 mg/kg de greutate corporală a subiectului. În contextul compozițiilor farmaceutice ale invenției, compoziția cuprinde 0,05 până la 600 mg de anticorp anti-PD-1.

În cazul unui anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3, o cantitate eficientă terapeutică poate fi de la aproximativ 10 micrograme (mcg) până la aproximativ 8000 mcg, de exemplu, aproximativ 10 mcg, aproximativ 20 mcg, aproximativ 50 mcg, aproximativ 70 mcg, aproximativ 100 mcg, aproximativ 120 mcg, aproximativ 150 mcg, aproximativ 200 mcg, aproximativ 250 mcg, aproximativ 300 mcg, aproximativ 350 mcg, aproximativ 400 mcg, aproximativ 450 mcg, aproximativ 500 mcg, aproximativ 550 mcg, aproximativ 600 mcg, 700 mcg, aproximativ 800 mcg, aproximativ 900 mcg, aproximativ 1000 mcg, aproximativ 1050 mcg, aproximativ 1100 mcg, aproximativ 1500 mcg, aproximativ 1700 mcg, aproximativ 2000 mcg, aproximativ 2050 mcg, aproximativ 2100 mcg, aproximativ 2200 mcg, aproximativ 2500 mcg, aproximativ 2700 mcg, aproximativ 2800 mcg, aproximativ 2900 mcg, aproximativ 3000 mcg, aproximativ 4000 mcg, aproximativ 5000 mcg, aproximativ 6000 mcg, aproximativ 7000 mcg, sau aproximativ 8000 mcg de anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3.

Cantitatea fie de anticorp anti-PD-1, fie de anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 conținută în dozele individuale poate fi exprimată în termeni de miligrame de anticorp per kilogram de greutate corporală a subiectului (adică, mg/kg). În anumite variante de realizare, fie anticorpul anti-PD-1, fie anticorpul bispecific anti-CD20/anti-CD3 utilizat în metodele prezentei invenții poate fi administrat unui subiect la o doză de aproximativ 0,0001 până la aproximativ 100 mg/kg de greutate corporală subiect. De exemplu, anticorpul anti-PD-1 poate fi administrat la o doză de aproximativ 0,1 mg/kg până la aproximativ 20 mg/kg din greutatea corporală a unui pacient. Anticorpul bispecific anti-CD20/anti-CD3

poate fi administrat la o doză de aproximativ 0,1 mg/kg până la aproximativ 10 mg/kg din greutatea corporală a unui pacient.

EXEMPLE

S-au făcut eforturi pentru a asigura acuratețea cu privire la numerele utilizate (de exemplu, cantități, temperatură etc.), dar ar trebui luate în considerare unele erori și abateri experimentale. Dacă nu se indică altfel, părțile sunt părți în greutate, greutatea moleculară este greutatea moleculară medie, temperatura este în grade Centigrade și presiunea este la sau aproape de cea atmosferică.

Exemplul 1: Eficacitatea *in vivo* a anticorpului anti-PD-1 în combinație cu anticorpul bispecific anti-CD20xCD3 împotriva tumorilor B16_{CD20}

În acest Exemplu, efectul blocării PD-1 în combinație cu imunoterapia țintită pe CD20 a fost examinat împotriva tumorilor B16_{CD20} stabilite la șoareci umanizați pentru CD20 și CD3 utilizând PD-1 anti-șoarece și anticorpi bispecfici CD20xCD3 anti-uman.

Exemplul de anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 utilizat în Exemplele de aici sunt „bsAb1” (cunoscut și ca „Anticorp 1” așa cum este dezvăluit în US 20150266966), un anticorp monoclonal bispecific complet uman împotriva CD20 și CD3 în care anticorpul cuprinde un braț de legare anti-CD20 care cuprinde o primă regiune variabilă a lanțului greu (A-HCVR) care cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 11 și o regiune variabilă a unui lanț ușor (LCVR) cuprinzând secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 12; și un braț de legare anti-CD3 care cuprinde o a doua regiune variabilă a lanțului greu (B-HCVR) care cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 13 și un LCVR cuprinzând secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 12.

Anticorpul bispecific bsAb1 cuprinde secvențe CDR cu lanț greu și ușor cuprinzând SEQ ID NR: 14 - 22.

Șoarecii umanizați pentru CD20 și pentru CD3 au fost modificați utilizând Tehnologia VelociGene® (Valenzuela și colab. 2003, Nat. Biotechnol. 21: 652-659), care au fost apoi încrucișați pentru a genera șoareci CD20 CD3 dublu umanizați (Cererea de Brevet SUA nr. 14/949.834, depusă la 23 noiembrie 2015).

Șoarecii au fost implantați subcutanat cu $2,5 \times 10^5$ B16_{CD20} celule în ziua -7.

În ziua 0, treizeci și cinci de șoareci cu volume tumorale între 25 și 115 mm³ au fost selectați și randomizați în cinci grupuri de tratament. Șoarecii au fost tratați de două ori pe săptămână cu anticorpi după cum urmează: Grupul 1: martor (PBS); Grupul 2: Martori izotip (un anticorp uman bivalent împotriva unui antigen irelevant și un martor IgG2a de șobolan - BE0089 de la BioXCell); Grupul 3: anti-hCD20xCD3 (bsAb1) (4 mg/kg); Grupul 4: anticorp PD-1 anti-șoarece (10 mg/kg; RMPI-14_rIgG2a; BioXCell); și Grupul 5: anti-hCD20xCD3 (bsAb1) (4 mg/kg) + anticorp PD-1 anti-șoarece (10 mg/kg). Toți anticorpii au fost administrați intraperitoneal. În Grupul 5, șoarecii au fost tratați concomitent cu anticorpi. Volumele tumorii au fost monitorizate prin măsurarea cu șubler de două ori pe săptămână pe durata experimentului și animalele fără tumori au fost monitorizate pentru absența recurenței tumorii timp de până la 80 de zile.

Monoterapia cu anti-PD-1 și anti-CD20xCD3 a întârziat creșterea tumorii la șoareci, șoarecii având nevoie în medie de 19 zile pentru a ajunge la 500 mm³ de volum tumoral. În contrast, șoarecii tratați cu anticorp anti-PD-1 în combinație cu anticorp bispecific anti-CD20xCD3 au avut o medie de 27 de zile pentru a atinge un volum tumoral de 500 mm³ (Figura 1 și Tabelul 1).

Tabelul 1: Creșterea tumorii la administrarea de anticorp anti-PD-1 și anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3

Tratament	Media zilelor pt a atinge 500mm ³	Șoareci fără tumoră la ziua 30
PBS	15	0/7
Martori Izotip	15	0/7
bsAb1	19	1/7
Anti-PD-1 (rIgG2a)	19	1/7
bsAb1 + antiPD-1	27	4/7

Tratamentul cu un singur agent și combinație nu a indus nicio modificare a greutății corporale și nu au fost observate semne macroscopice de toxicitate în niciun grup de tratament.

Experimentul de mai sus a fost repetat de două ori și, în ambele cazuri, tratamentul combinat a dus la întârziere și inhibare semnificativă a creșterii tumorii în comparație cu martorii sau cu monoterapia fie cu anticorp anti-PD-1, fie cu anticorp bispecific anti-CD20/CD3.

Exemplul 2: Eficacitatea *in vivo* a anticorpului anti-PD-1 și a anticorpului bispecific anti-CD20xCD3 utilizând un regim de dozare secvențial

În acest Exemplu, efectul anti-tumoral al anticorpului PD-1 anti-șoarece în combinație cu anticorpul bispecific CD20xCD3 anti-uman a fost examinat utilizând un regim de dozare secvențial.

Șoarecii CD20 CD3 dublu umanizați au fost modificați folosind tehnologia VelociGene® (Valenzuela și colab. 2003, Nat. Biotechnol. 21: 652-659; Cererea de Patent SUA Nr. 14/949.834, depusă la 23 noiembrie 2015).

Șoarecii au fost implantați subcutanat cu $2,5 \times 10^5$ celule B16_{CD20} în ziua -7.

În ziua 0, treizeci și cinci de șoareci cu volume tumorale între 30 și 65 mm³ au fost selectați și randomizați în șapte grupuri de tratament (Figura 2). Creșterea tumorii a fost măsurată cu șublere și greutatea corporale înregistrate de două ori pe săptămână pe toată durata studiului. Șoarecii au fost tratați de două ori pe săptămână intraperitoneal cu anticorpi după cum urmează: Grupul 1: martor (PBS); Grupul 2: Martori izotip (un anticorp uman bivalent împotriva unui antigen irelevant și un martor IgG2a de șobolan - BE0089 de la BioXCell); Grupul 3: anticorp PD-1 anti-șoarece (10 mg/kg; RMPI-14_{rlgG2a}; BioXCell); Grupul 4: anti-hCD20xCD3 (bsAb1) (4 mg/kg); Grupul 5: anti-hCD20xCD3 (bsAb1) (4 mg/kg) + anticorp PD-1 anti-șoarece (10 mg/kg) dozat concomitent; Grupul 6: anticorp PD-1 anti-șoarece (10 mg/kg) urmat de anti-hCD20xCD3 (bsAb1) (4 mg/kg); și Grupul 7: anti-hCD20xCD3 (bsAb1) (4 mg/kg) urmat de anticorp PD-1 anti-șoarece (10 mg/kg). Toți anticorpii au fost administrați peritoneal utilizând o schemă de dozare secvențială, așa cum se arată în Tabelul 2.

Tabelul 2: Regimul de dozare secvențial

	Gr.	Component #1	Schema de Dozare Component #1	Component #2	Schema de Dozare Component #2	Șoarece#
Martori	1	Vehicul	Inceput Ziua 0 2x/săpt	Vehicle	Inceput Ziua 0 2x/week	5
	2	Martor Izotip	Inceput Ziua 0 2x/ săptăm	Martor Izotip	Inceput Ziua 0 2x/week	5
	3	RMPI-14 (anti-PD-1)	Inceput Ziua 0 2x/ săptăm	N/A	N/A	5
	4	N/A	N/A	bsAb1	Inceput Ziua 0 2x/week	6
Dozare Aceleași- Timp	5	RMPI-14 (anti-PD-1)	Inceput Ziua 0 2x/ săptăm	bsAb1	Inceput Ziua 0 2x/week	7
Anti-PD-1 Apoi bsAb1	6	RMPI-14 (anti-PD-1)	Inceput Ziua 0 2x/ săptăm	bsAb1	Inceput Ziua 7 2x/week	7
bsAb1 Apoi anti-PD-1	7	RMPI-14 (anti-PD-1)	Inceput Ziua 7 2x/ săptăm	bsAb1	Inceput Ziua 0 2x/week	7

Dozarea bsAb1 și a anticorpului anti-șoarece PD-1 în același timp sau dozarea anticorpului anti-mPD-1 urmată de bsAb1 au demonstrat ambele întârzieri semnificative în creșterea tumorii în comparație cu martorii cu un singur braț (Figura 3). În tratamentul combinat în care bsAb1 a fost administrat din Z0 și anticorpul anti-PD-1 este administrat din Z7, nu a existat nicio întârziere în creșterea tumorii în comparație cu brațele de tratament unice ale studiului. Nu s-a observat nicio diferență în ceea ce privește pierderea în greutate sau letalitatea nelegată de tumoră la administrarea combinației.

Exemplul 3: Studiu clinic cu anticorpi anti-PD-1 și anticorpi anti-CD20xCD3 la pacienții cu tumori maligne cu celule B

Acest studiu este un studiu deschis, multicentric, de escaladare a dozei cu brațe de escaladare și extindere a dozelor multiple pentru a investiga eficacitatea, siguranța și tolerabilitatea anticorpului anti-PD-1 și a anticorpului bispecific anti-CD20/anti-CD3, singur și în combinație, la pacienții adulți cu afecțiuni maligne cu celule B (inclusiv limfom non-Hodgkin cu celule B, limfom Hodgkin și leucemie limfoblastică acută).

Exemplul de anticorp anti-PD-1 utilizat în acest exemplu este REGN2810 (cunoscut și ca H4H7798N așa cum este dezvăluit în US20150203579), un anticorp monoclonal anti-PD-1 complet uman care cuprinde un lanț greu care cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 9 și un lanț ușor care cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 10; o pereche de secvențe de aminoacizi HCVR/LCVR cuprinzând SEQ ID NR: 1/2; și secvențe CDR cu lanț greu și ușor cuprinzând SEQ ID NR: 3 - 8.

Exemplul de anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 utilizat în acest Exemplu este bsAb1 (descriș în Exemplul 1 de aici).

Obiectivul principal al studiului este de a evalua siguranța, tolerabilitatea și toxicitatea limitatoare de doză (DLT) a: (i) agent unic REGN2810 la pacienții cu limfom (limfom non-Hodgkin cu celule B [B-NHL] și limfom Hodgkin [HL]); (ii) bsAb1 unic la pacienții cu Leucemie Limfoblastică Acută (LLA); (iii) combinație de bsAb1 și REGN2810 la pacienții cu B-NHL; și (iv) combinație de bsAb1 și REGN2810 la pacienții cu LLA.

Obiectivele secundare ale studiului sunt: (i) determinarea unei doze recomandate pentru: REGN2810 ca agent unic la pacienții cu limfom (B-NHL și HL); bsAb1 ca agent unic la pacienții cu LLA; bsAb1 și REGN2810 administrate în combinație la pacienții cu B-NHL; și bsAb1 și REGN2810 administrate în combinație la pacienții cu LLA; (ii) pentru a caracteriza profilul farmacocinetic (PK) al bsAb1 și REGN2810 atunci când sunt administrate ca agenți unici și în combinație; (iii) pentru a evalua imunogenitatea bsAb1 și REGN2810 atunci când sunt administrate ca agenți unici și în combinație; și (iv) să studieze activitatea antitumorală preliminară a bsAb1 și REGN2810 când sunt administrați ca agenți unici în indicații specifice și în combinație, măsurat prin rata de răspuns globală, boala reziduală minimă (MRD) la pacienții cu boală a măduvei osoase la momentul inițial, durata răspunsului, supraviețuirea fără progresie, mediana și rata la 6 și 12 luni.

Obiective suplimentare sunt evaluarea biomarkerilor care se pot corela cu mecanismul de acțiune, toxicitatea observată și activitatea antitumorală potențială, inclusiv, dar fără a se limita la: profilarea citokinelor; subseturile de celule B și T din sângele periferic și fenotiparea imună; modificări ale expresiei genelor în sângele periferic; și imunoglobulina serică.

Populația Studiului

Populația țintă include pacienți cu limfom (B-NHL și HL) și ALL pentru care nu există opțiuni standard de îngrijire. Diferitele subtipuri patologice eligibile pentru diferitele brațe ale studiului sunt enumerate în Tabelele 3 - 5.

Tabelul 3: Eligibilitatea subtipului patologic pentru brațele de tratament pentru limfom pe baza clasificării OMS: Creșterea dozei cu agent unic REGN2810 în Cohortele B-NHL și HL

Hodgkin's Lymphoma (HL)	• HL Clasic cu Scleroză Nodulară • HL Clasic Bogat în Limfocite • HL Clasic cu Celularitate Mixtă • HL Clasic cu Epuizare Limfocitară • HL Nodular Predominant Limfocitar
-------------------------	---

Neoplasme Mature cu celule B	• Limfom Folicular (FL) de orice grad • (SLL) Limfom Limfocitar Mic • (LPL) Limfom Limfoplasmocitoid • (MZL) Limfom de zonă marginală (splenic, nodal, sau extranodal) • (MCL) Limfom cu celule de mantă • (DLBCL) Limfom difuz cu celule-B mari, toate subtipurile • (DLBCL) Limfom difuz cu celule-B mari, nespecificat în alt mod • Limfom cu celule-B mari bogat în celule T histiocite • DLBCL asociat cu inflamație cronică • Virus Epstein-Barr (EBV)+ DLBCL al bătrânilor • Granulomatoză Limfomatoidă • Limfom primar mediastinal (timic) cu celule-B mari • Limfom cu celule-B mari intravascular • DLBCL primar cutanat, tip picior • Limfom cu celule-B, neclasificabil, cu caracteristici intermediare între DLBCL și Limfom Burkitt • Limfom Burkitt
------------------------------	---

Tabelul 4: Eligibilitatea subtipului patologic pentru brațele de tratament pentru limfom pe baza Clasificării OMS: Cohorte de Expansiune cu Agent Unic REGN2810

REGN2810 Agent Unic de Expansiune în Limfom Hodgkin	REGN2810 Agent Unic de Expansiune în CD20+ B-NHL INDOLENT	REGN2810 Agent Unic de Expansiune în CD20+ B-NHL AGRESIV
• HL Clasic cu Scleroză Nodulară	NEOPLASME MATURE CU CELULE-B	NEOPLASME MATURE CU CELULE-B • FL (grad 3)
• HL Clasic Bogat în Limfocite • HL Clasic cu Celularitate Mixtă • HL Clasic cu Epuizare Limfocitară • HL Nodular Predominant Limfocitar	• FL (grad 1 sau 2) • (LPL) Limfom Limfoplasmocitoid • MZL (splenic, nodal, sau extranodal) • (SLL) Limfom Limfocitar Mic	• Limfom cu celule de mantă (MCL) • DLBCL, toate subtipurile • DLBCL, nespecificat în alt mod • Limfom cu celule-B mari bogat în celule T histiocite • DLBCL asociat cu inflamație cronică • Virus Epstein-Barr (EBV)+ DLBCL al bătrânilor • Granulomatoză Limfomatoidă • Limfom primar mediastinal (timic) cu celule-B mari • Limfom cu celule-B mari intravascular • DLBCL primar cutanat, tip picior • Limfom cu celule-B, neclasificabil, cu caracteristici intermediare între DLBCL și Limfom Burkitt • Limfom Burkitt

Tabelul 5: Eligibilitatea subtipului patologic pentru brațele de tratament pentru limfom pe baza clasificării OMS: bsAb1 și REGN2810 în combinație de creștere a dozei și Cohorte de expansiune

Combinație de Doze pentru Escaladare în CD20+ B- NHL	Combinație pentru Expansiune în CD20+ B-NHL INDOLENT	Combinație pentru Expansiune în CD20+ B- NHL AGRESIV
NEOPLASME MATURE CU CELULE-B Limfom Folicular (FL) orice grad Limfom Limfocitar Mic (SLL) Limfom Limfoplasmocitoid (LPL) Limfom de zonă marginală (MZL) (splenic, nodal, sau extranodal)	NEOPLASME MATURE CU CELULE-B FL (gradul 1 sau 2) Limfom Limfoplasmocitoid (LPL) MZL (splenic, nodal, sau extranodal) Limfom Limfocitar Mic (SLL)	NEOPLASME MATURE CU CELULE-B FL (gradul 3) Limfom cu celule de mantă (MCL) DLBCL, toate subtipurile DLBCL, nespecificat în alt mod Limfom cu celule-B mari bogat în celule T histiocite DLBCL asociat cu inflamație cronică

(continuare)

Combinație de Doze pentru Escaladare în CD20+ B- NHL	Combinație pentru Expansiune în INDOLENT CD20+ B-	Combinație pentru Expansiune în CD20+ B-NHL AGRESIV
Limfom difuz cu celule-B mari (DLBCL), toate subtipurile (DLBCL) Limfom difuz cu celule-B mari, nespecificat în alt mod Limfom cu celule-B mari bogat în celule T / histiocite DLBCL asociat cu inflamație cronică Virus Epstein-Barr (EBV)+ DLBCL al bătrânilor Granulomatoză Limfomatoidă Limfom primar mediastinal (timic) cu celule-B mari Limfom cu celule-B mari intravascular DLBCL primar cutanat, tip picior Limfom cu celule-B, neclasificabil, cu caracteristici intermediare între DLBCL și Limfom Burkitt Limfom Burkitt		Virus Epstein-Barr (EBV)+ DLBCL al bătrânilor Granulomatoză Limfomatoidă Limfom primar mediastinal (timic) cu celule-B mari Limfom cu celule-B mari intravascular DLBCL primar cutanat, tip picior Limfom cu celule-B, neclasificabil, cu caracteristici intermediare între DLBCL și Limfom Burkitt Limfom Burkitt

Criterii de includere pentru brațele de tratament B-NHL și HL

5

10

Un pacient trebuie să îndeplinească următoarele criterii pentru a fi eligibil pentru includerea în studiu: (1) Malignitate hematologică definită prin: a. NHL: Malignitate a celulelor B CD20+ documentată, cu boală activă care este fie refractară, fie recidivă după cea mai recentă terapie anterioară, pentru care nu există opțiuni standard de îngrijire și pentru care tratamentul cu un anticorp anti-CD20 poate fi adecvat: i. B-NHL conform criteriilor OMS 2008 (Campo 2011), b. HL documentat, conform criteriilor OMS 2008 (Campo 2011), cu boala activă care nu răspunde la terapia anterioară sau a recidivat

- după terapia anterioară pentru care nu există opțiuni standard de îngrijire (NUMAI pentru cohortele de terapie cu agent unic REGN2810); (2) Toți pacienții trebuie să aibă cel puțin 1 leziune măsurabilă bidimensional ($\geq 1,5$ cm) documentată prin imagistică de diagnostic (CT, PET-CT sau RMN); (3) Vârsta ≥ 18 ani; (4) Starea de performanță a Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) ≤ 1 ; (5) Speranța de viață de cel puțin 6 luni; (6) Funcția adecvată a măduvei osoase documentată de: a. Numărul de trombocite $\geq 75 \times 10^9/L$ b. Nivelul hemoglobinei ≥ 9 g/dL c. ANC $\geq 1 \times 10^9/L$ (NOTĂ: Pacienții cu număr de celule sub pragurile enumerate mai sus pot fi luați în considerare pentru înscriere dacă, în opinia investigatorului, se crede că motivul se datorează infiltrației actuale a măduvei osoase prin malignitate subiacentă. În astfel de cazuri, investigatorul trebuie să discute eligibilitatea cu sponsorul și să primească în scris aprobarea pentru înscriere.); (7) Funcție hepatică adecvată: a. Bilirubina totală $\leq 1,5 \times$ limita superioară a normalului (ULN) ($\leq 3 \times$ LSN dacă afectarea ficatului) b. Transaminaze $\leq 2,5 \times$ LSN ($\leq 5 \times$ LSN dacă afectarea ficatului) c. Fosfataza alcalină $\leq 2,5 \times$ LSN ($\leq 5 \times$ LSN în cazul afectării ficatului) (NOTĂ: Pacienții cu afectare hepatică a malignității lor cu $3 \times$ LSN $\leq$ aspartat aminotransferază (AST) și/sau alanin aminotransferază (ALT) $\leq 5 \times$ LSN și $1,5 \times$ LSN $\leq$ bilirubina totală $\leq 3 \times$ LSN vor fi excluse. NOTĂ: Pacienții cu sindrom Gilbert nu trebuie să îndeplinească această cerință cu condiția ca bilirubina lor totală să fie neschimbată față de valoarea inițială. NOTĂ: Pacienții pot fi luați în considerare pentru înscriere dacă, în opinia investigatorului, rezultatele anormale de laborator se datorează unei malignități subiacente curente. În astfel de cazuri, investigatorul trebuie să discute eligibilitatea cu sponsorul și să primească în scris aprobarea pentru înscriere.); (8) Creatinină serică $\leq 1,5 \times$ LSN sau clearance-ul creatininei calculat de Cockcroft-Gault ≥ 50 ml/min (NOTĂ: Pacienții cu clearance al creatininei de către Cockcroft-Gault care nu îndeplinesc criteriile pot fi luați în considerare pentru înscriere dacă un clearance al creatininei măsurat (pe baza pe urină de 24 de ore sau altă metodă sigură) este ≥ 50 ml/min. NOTĂ: Pacienții pot fi luați în considerare pentru înscriere dacă, în opinia investigatorului, rezultatele anormale de laborator se datorează unei malignități subiacente curente. În astfel de cazuri, investigatorul trebuie să discute eligibilitatea cu sponsorul și să primească în scris aprobarea pentru înscriere.); (9) Frația de ejeție cardiacă normală prin pretratament MUGA sau ecocardiograma cu 4 săptămâni înainte de înscriere în intervalul normal de valori pentru instituție; (10) Disponibilitatea de a urma un pretratament obligatoriu de biopsie tumorală, dacă, în opinia investigatorului, pacientul are o leziune accesibilă care poate fi biopsiată fără risc semnificativ pentru pacient; (11) Dorind și capabil să se conformeze vizitelor la clinică și procedurilor legate de studiu; și (12) Furnizați consimțământul informat semnat.

Criterii de excludere pentru brațele de tratament B-NHL și HL

- Un pacient care îndeplinește oricare dintre următoarele criterii va fi exclus din studiu: (1) limfom primar al sistemului nervos central (SNC) sau implicare cunoscută sau suspectată a SNC de către NHL nonprimar al SNC; (2) Antecedentele sau actualele patologii relevante ale SNC, cum ar fi: a. Epilepsie, convulsii, pareză, afazie, apoplexie, leziuni grave ale creierului, boală cerebeloasă, sindrom cerebral organic, psihoză sau b. Dovezi pentru prezența leziunilor inflamatorii și/sau vasculitei pe RMN cerebral în timpul screening-ului; (3) Dovezi semnificative în curs de desfășurare sau recente (în decurs de 2 ani) ale unei boli autoimune care a necesitat tratament cu tratamente imunosupresoare sistemice, ceea ce poate sugera risc pentru iAE; (4) Chimioterapia standard anti-linfom (nonbiologică) sau radioterapie cu mai puțin de 28 de zile înainte de prima administrare a medicamentului (medicamentelor) de studiu; (5) Tratament cu un agent nebiologic experimental cu mai puțin de 28 de zile înainte de prima administrare a medicamentului (medicamentelor) de studiu; (6) Tratament cu alemtuzumab mai puțin de 12 săptămâni de la prima administrare a medicamentului (medicamentelor) de studiu; (7) Tratament cu rituximab, agenți imunomodulatori sau alt agent biologic experimental sau comercial cu mai puțin de 28 de zile înainte de prima administrare a medicamentului (medicamentelor) de studiu. Exemple de agenți de modulare a imunității includ blocați ai CTLA-4, 4-1BB (CD137), LAG 3, OX-40, vaccinuri terapeutice sau tratamente cu citokine; (8) Transplant alogenic prealabil de celule stem; (9) Tratament anterior cu un agent care blochează calea PD-1/PD-L1, cu excepția cazului în care pacientul a demonstrat beneficii (aplicabil numai pentru pacienții aflați în terapia cu un singur agent REGN2810) (Notă: astfel de pacienți trebuie discutați cu monitorul medical al sponsorului înainte de înscriere); (10) Malignitate activă concomitentă pentru care pacientul primește tratament; (11) Dovezi ale unei boli sau afecțiuni medicale concomitente semnificative care ar putea interfera cu desfășurarea studiului sau ar putea pune pacientul la un risc semnificativ, inclusiv, dar fără a se limita la, boli cardiovasculare semnificative (de exemplu, New York Heart Association boală cardiacă Clasa III sau IV, infarct miocardic cu 6 luni înainte de screening, aritmii instabile sau angină instabilă) și/sau boală pulmonară semnificativă (de exemplu, boală pulmonară obstructivă și antecedente de bronhospasm simptomatic); (12) Infecție bacteriană, virală, fungică, micobacteriană sau de altă natură activă cunoscută sau orice episod major de infecție care necesită

spitalizare sau tratament cu antiinfecțioase IV în decurs de 14 zile înainte de prima administrare a medicamentului de studiu; (13) Infecția cu virusul imunodeficienței umane (HIV) sau infecția activă cu virusul hepatitei B (VHB) sau virusul hepatitei C (VHC); (14) Antecedente de pneumonită în ultimii 5 ani; (15) Istoricul reacțiilor alergice atribuite compușilor cu compoziție chimică sau biologică similară a medicamentului (medicamentelor) studiate; (16) Antecedente de hipersensibilitate la orice compus din grupul de antibiotice tetraciline (precauție datorită prezenței potențiale a urmelor componente în materialul medicamentului studiat); (17) Hipersensibilitate cunoscută atât la alopurinol, cât și la rasburicază; (18) Femei însărcinate sau care alăptează; și (19) Bărbați sau femei cu potențial fertil, activi sexual, care nu doresc să practice contracepția adecvată în timpul studiului și până la 6 luni după întreruperea medicației de studiu.

Criteriile de Includere pentru Brațele de Studiu pentru Leucemia Limfoblastică Acută

Un pacient trebuie să îndeplinească următoarele criterii pentru a fi eligibil pentru includerea în studiu: (1) CD20+ recidivat sau refractar documentat (definit ca expresie CD20 prin citometrie în flux pe $\geq 20\%$ din limfoblastele leucemice) ALL de linie B după cel puțin inducție și 1 ciclu de chimioterapie de consolidare a. Pacienților cu ALL cromozom Philadelphia pozitiv li se cere să fi eșuat sau să fie intoleranți la cel puțin 1 inhibitor de tirozin-kinază NOTĂ: Pacienții cu criză blastică de leucemie mieloidă cronică (LMC) cu fenotip limfoid sunt acceptați, cu condiția să îndeplinească criteriul de includere #1; (2) Vârsta ≥ 18 ani; (3) Starea de performanță ECOG ≤ 2 ; (4) Boală SNC negativă, confirmată prin puncție lombară, în termen de 28 de zile de la începerea medicamentului de studiu (vezi Anexa 5); (5) Funcția adecvată a măduvei osoase documentată de: a. Numărul de trombocite $\geq 10 \times 10^9 /L$ b. Nivelul Hb ≥ 7 g/dL c. Număr absolut de fagocite $\geq 0,5 \times 10^9/L$ (fagocite: neutrofile, benzi și monocite); (6) Funcție hepatică adecvată: a. Bilirubina totală $\leq 1,5 \times ULN$ ($\leq 3 \times ULN$ dacă este afectare a ficatului) b. Transaminaze $\leq 2,5 \times ULN$ ($\leq 5 \times ULN$ în cazul afectării ficatului) c. Fosfataza alcalină $\leq 2,5 \times ULN$ ($\leq 5 \times ULN$ în cazul afectării ficatului) (NOTĂ: Pacienții cu sindrom Gilbert nu trebuie să îndeplinească această cerință cu condiția ca bilirubina lor totală să fie neschimbată față de valoarea inițială. NOTĂ: Pacienții pot fi luați în considerare pentru înscriere dacă, în opinia investigatorului, rezultatele anormale de laborator se datorează unei malignități subiacente curente. În astfel de cazuri, investigatorul trebuie să discute eligibilitatea cu sponsorul și să primească în scris aprobarea pentru înscriere.); (7) Creatinină serică $\leq 1,5 \times ULN$ sau clearance-ul creatininei calculat de Cockcroft-Gault ≥ 50 ml/min (NOTĂ: Pacienții cu clearance al creatininei de către Cockcroft-Gault care nu îndeplinesc criteriile pot fi luați în considerare pentru înscriere dacă un clearance al creatininei măsurat (pe baza pe urină de 24 de ore sau altă metodă sigură) este ≥ 50 ml/min. NOTĂ: Pacienții pot fi luați în considerare pentru înscriere dacă, în opinia investigatorului, rezultatele anormale de laborator se datorează unei malignități subiacente curente. În astfel de cazuri, investigatorul trebuie să discute eligibilitatea cu sponsorul și să primească în scris aprobarea pentru înscriere.); (8) Niciun semn de boală grefă versus gazdă acută sau cronică (GvHD) și nicio medicație anti-GvHD în decurs de 14 zile înainte de inițierea medicamentului(lor) de studiu; (9) Frația de ejeție cardiacă normală prin pretratament MUGA sau ecocardiogramă în decurs de 4 săptămâni înainte de înscriere în intervalul normal de valori pentru instituție; (10) Dorind și fiind capabil să se conformeze vizitelor la clinică și procedurilor legate de studiu; și (11) Furnizați consimțământul informat semnat.

Criterii de excludere pentru brațele de tratament pentru leucemia limfoblastică acută

Un pacient care îndeplinește oricare dintre următoarele criterii va fi exclus din studiu: (1) Istoricul sau o patologie actuală relevantă a SNC, cum ar fi a. Epilepsie, convulsii, pareză, afazie, apoplexie, leziuni grave ale creierului, boală cerebeloasă, sindrom cerebral organic, psihoză sau b. Dovezi pentru prezența leziunilor inflamatorii și/sau vasculitei pe RMN cerebral în timpul screening-ului; (2) leucemie Burkitt; (3) Implicarea testiculară curentă a leucemiei; (4) Dovezi în curs de desfășurare sau recente (în decurs de 2 ani) de boală autoimună semnificativă (cu excepția GvHD) care a necesitat tratament cu tratamente imunosupresoare sistemice, ceea ce poate sugera risc de iAE; (5) Chimioterapie standard anti-leucemie (nebiologică) sau radioterapie cu mai puțin de 14 zile înainte de prima administrare a medicamentului (medicamentelor) de studiu; (6) Tratament cu un agent nebiologic experimental cu mai puțin de 14 zile înainte de prima administrare a medicamentului (medicamentelor) de studiu; (7) Tratament cu rituximab, agenți de modulare a imunității sau alt agent biologic experimental sau comercial cu mai puțin de 14 zile înainte de prima administrare a medicamentului de studiu. (Exemple de agenți de modulare a imunității includ blocanți ai CTLA-4, 4-1BB (CD137), LAG 3, OX-40, vaccinuri terapeutice sau tratamente cu citokine); (8) Tratament cu alemtuzumab, cu mai puțin de 12 săptămâni înainte de prima administrare a medicamentului (medicamentelor) de studiu; (9) Transplantul prealabil de celule stem alogene în decurs de 3 luni de la tratament; (10) Malignitate activă concomitentă

pentru care pacientul primește tratament; (11) Dovezi ale unei boli sau afecțiuni medicale concomitente semnificative care ar putea interfera cu desfășurarea studiului sau ar putea pune pacientul la un risc semnificativ, inclusiv, dar fără a se limita la, boli cardiovasculare semnificative (de exemplu, New York Heart Association Clasa III sau boală cardiacă IV, infarct miocardic cu 6 luni înainte de screening, aritmii instabile sau angină instabilă) și/sau boală pulmonară semnificativă (de exemplu, boală pulmonară obstructivă și antecedente de bronhospasm simptomatic); (12) Infecție bacteriană, virală, fungică, micobacteriană sau de altă natură activă cunoscută sau orice episod major de infecție care necesită spitalizare sau tratament cu antiinfecțioase IV în decurs de 14 zile înainte de prima administrare a medicamentului (medicamentelor) de studiu; (13) Infecția cu HIV sau infecția activă cu HBV sau HCV; (14) Antecedente de pneumonită în ultimii 5 ani; (15) Istoricul reacțiilor alergice atribuite compuşilor cu compoziție chimică sau biologică similară a medicamentului (medicamentelor) studiate; (16) Antecedente de hipersensibilitate la orice compus din grupul de antibiotice tetraciline (precauție datorită prezenței potențiale a urmelor componente în materialul medicamentului studiat); (17) Hipersensibilitate cunoscută atât la alopurinol, cât și la rasburicase; (18) Femei însărcinate sau care alăptează; și (19) bărbați sau femei cu potențial fertil, activi sexual, care nu doresc să practice contracepția adecvată în timpul studiului și până la 6 luni după întreruperea medicației de studiu.

Proiectul studiului

Acesta este un studiu deschis, multicentric, de escaladare a dozei, cu brațe de escaladare și extindere a dozei multiple. Pacienții sunt repartizați unuia dintre următoarele brațe: agent unic REGN2810, agent unic bsAb1 sau o combinație a ambelor medicamente, în funcție de diagnosticul pacientului și de stadiul studiului la momentul înscrierii.

Brațele de tratament și cohortele de doză pentru pacienții cu limfom (B-NHL și HL) sunt detaliate în Figura 4. Pacienții sunt alocați uneia dintre următoarele cohorte: brațe cu agent unic REGN2810 la pacienții cu limfom (B-NHL și HL)

- 2 cohorte de escaladare a dozei (1 mg/kg și 3 mg/kg)
- 3 cohorte de expansiune: a) B-NHL indolent, b) B-NHL agresiv și c) Brațe de tratament combinat HL la pacienții cu B-NHL

- Cohorte de escaladare a dozelor multiple
- 2 cohorte de expansiune: a) B-NHL indolent și b) B-NHL agresiv

Cohortele de tratament cu un singur agent și combinate pentru pacienții cu LLA sunt detaliate în Figura 5. Pacienții sunt repartizați într-una dintre următoarele cohorte: Brațele bsAb1 cu agent unic la pacienții cu LLA

- Cohorte de escaladare a dozelor multiple
- 2 cohorte de expansiune: a) LLA recidivată/refractară și b) LLA cu boală reziduală minimă pozitivă (MRD+). Brațe de tratament combinat la pacienții cu LLA

- Cohorte de escaladare a dozelor multiple
- 2 cohorte de expansiune: a) LLA recidivată/refractară și b) LLA MRD-pozitivă

Tratamentul cu terapie combinată este inițiat după ce datele privind un singur agent sunt transmise și revizuite de către autoritatea sanitară relevantă.

REGN2810 cu un Singur Agent la Pacienții cu Limfom (B-NHL și HL)

Figura 6 prezintă schema de tratament cu agent unic REGN2810 pentru pacienții cu limfom. Pacienților li se administrează REGN2810 IV la fiecare 2 săptămâni (Q2W) la un nivel de doză specificat (DL). Pacienții primesc REGN2810 pentru un minim de 12 doze (24 de săptămâni) și până la maximum 24 de doze (48 de săptămâni). După cel puțin 24 de săptămâni de tratament și după consultarea investigatorului și a sponsorului, pacienții cu evaluări ale sarcinii tumorale a răspunsului complet, a bolii stabile sau a răspunsului parțial care au rămas neschimbate pentru 3 evaluări succesive ale tumorii pot alege, de asemenea, să întrerupă tratamentul. La terminarea tratamentului (24 sau 48 de săptămâni), va exista o perioadă de urmărire de 24 de săptămâni (6 luni).

Agent Singur bsAb1 la Pacienții cu LLA

Figura 7 prezintă schema de tratament cu bsAb1 cu un singur agent pentru pacienții cu LLA. Pacienților li se atribuie un DL care va consta dintr-o doză inițială de pornire urmată de o doză mai mare ulterioară, cu condiția ca doza inițială să fie tolerată (Tabelul 6).

Tabelul 6: Niveluri de doză pentru bsAb1

Nivel Doză	Doza inițială (mcg)	Doza ulterioară (mcg)
DL-1	10	30

DL1	30	100
DL2	100	300
DL3	300	1000
DL4	1000	2000
DL5	1000	3000
DL6	1000	4000
DL7	1000	5000

bsAb1 intravenos se administrează săptămânal pentru 11 doze, urmat de tratament la fiecare 4 săptămâni (Q4W) începând cu săptămâna 13, pentru 6 doze suplimentare. Pacienții sunt urmăriți încă 6 luni după terminarea tratamentului cu bsAb1.

5 Terapia Combinată

Există 2 brațe combinate separate; unul pentru pacienții cu B-NHL și altul pentru pacienții cu LLA. Figura 8 prezintă schema de tratament combinat pentru pacienții cu B-NHL și Figura 9 arată schema de tratament combinat pentru pacienții cu LLA.

10 Pacienților li se administrează REGN2810 IV Q2W la un DL specificat (0,3, 1 sau 3 mg/kg). Pacienții primesc REGN2810 pentru un minim de 12 doze (24 de săptămâni) și până la maximum 24 de doze (48 de săptămâni). După cel puțin 24 de săptămâni de tratament și după consultarea investigatorului și a sponsorului, pacienții cu evaluări ale sarcinii tumorale a răspunsului complet, a bolii stabile sau a răspunsului parțial care au rămas neschimbate pentru 3 evaluări succesive ale tumorii pot alege, de
15 asemenea, să întrerupă tratamentul.

Pacienților li se va atribui un bsAb1 DL care va consta dintr-o doză inițială de pornire urmată de o doză mai mare ulterioară, cu condiția ca doza inițială să fie tolerată (Tabelul 6). BsAb1 intravenos va fi administrat săptămânal pentru 11 doze, urmat de tratament Q4W începând cu săptămâna 13, pentru 6
20 doze suplimentare.

În vizitele de studiu în care se administrează atât bsAb1 cât și REGN2810, REGN2810 va fi administrat mai întâi. Pacienții vor fi urmăriți timp de cel puțin încă 6 luni după terminarea tratamentului cu bsAb1. Începutul urmăririi va depinde de cât timp pacientul este tratat cu REGN2810 (24 sau 48 de săptămâni).

25 Doze inițiale

Agent unic REGN2810: Doza inițială pentru REGN2810 la pacienții cu limfom este de 1 mg/kg o dată la 2 săptămâni, în absența unor observații neașteptate privind siguranța. Expansiunile REGN2810 ca agent unic în B-NHL indolent, B-NHL agresiv și HL sunt determinate în brațul de creștere a dozei REGN2810 ca agent unic la pacienții cu limfom (B-NHL și HL).

30 Agent unic bsAb1: DL inițial al agentului unic bsAb1 la pacienții cu LLA se bazează pe siguranța observată. Doza de pornire de DL inițială la pacienții cu LLA va fi de cel puțin 10 ori mai mică decât doza inițială de DL care a eliminat siguranța; cu toate acestea, DL de pornire nu va fi mai mic decât DL1. Expansiunile bsAb1 ca un agent singur în LLA recidivă/refractară și LLA pozitivă pentru MRD sunt determinate în brațul de escaladare a dozei LLA.

35 Brațul combinat - Pacienți cu B-NHL: Doza de REGN2810 atunci când este administrată în asociere cu bsAb1 la pacienții cu B-NHL este planificată să fie de 3 mg/kg Q2W, cu condiția să nu existe observații neașteptate privind siguranța în cazul creșterii dozei de monoterapie REGN2810 în tumori maligne ale celulelor B. DL inițial al bsAb1 atunci când este administrat în asociere cu REGN2810 la pacienții cu B-NHL va fi cu 1 DL mai mic decât cel care are siguranța clară și nu va fi mai mic decât
40 DL1.

Braț combinat - Pacienți cu LLA: Doza de REGN2810 atunci când este administrată în asociere cu bsAb1 la pacienții cu LLA este planificată să fie de 3 mg/kg Q2W, cu condiția să nu existe observații neașteptate privind siguranța în cazul creșterii dozei de REGN2810 ca agent unic în tumorile maligne ale celulelor B. DL inițial al bsAb1 atunci când este administrat în combinație cu REGN2810 la pacienții cu
45 LLA va fi la un DL care are siguranța clară și a demonstrat dovezi de activitate biologică minimă în brațul de creștere a dozei de bsAb1 ca agent unic la pacienții cu LLA din studiul curent. Activitatea biologică minimă este definită ca dovada de reducere a blastelor măduvei osoase cu 50% (răspuns parțial) la evaluarea măduvei osoase efectuată în săptămâna 5 la cel puțin 1 din 3 pacienți tratați la nivelul de doză specificat.

50 Creșterea dozei

În toate brațele și toate cohortele, regulile de escaladare a dozei vor urma un design tradițional de escaladare de 3+3 doze, înrolând între 3 și 6 pacienți per cohortă.

Perioada de observare a toxicității care limitează doza (DLT) este definită ca primele 28 de zile de tratament pentru toate cohortele din toate brațele. Oricare dintre următoarele evenimente care apar în primele 28 de zile de tratament (și considerate a fi legate de tratamentul din studiu de către investigator) este considerată DLT: uveită de grad ≥ 2 , neutropenie de grad 4, trombocitopenie de grad 4 și neutropenie febrilă de grad ≥ 3 .

Doza maximă tolerată (MTD) este determinată pe baza toxicității observate în timpul perioadei de observare a DLT și este definită ca nivelul de doză (DL) imediat sub nivelul la care doza este oprită din cauza apariției DLT la 2 sau mai mulți pacienți. Dacă porțiunea de creștere a dozei dintr-un braț nu este oprită din cauza apariției unui DLT, se va considera că MTD nu a fost determinat.

O doză biologică optimă este, de asemenea, determinată pe baza siguranței și tolerabilității observate, a PK, PD și a activității antitumorale preliminare.

Doza recomandată pentru brațele de expansiune este determinată pe baza analizei datelor utilizate pentru a determina MTD și/sau doza biologică optimă.

MTD, doza biologică optimă și doza recomandată sunt determinate independent pentru brațele cu agent unic și pentru fiecare grup de terapie combinată în indicația specifică (NHL și LLA); pot fi identificate până la 4 MTD, doza biologică optimă și dozele recomandate. MTD pentru oricare dintre brațele de terapie combinată nu depășește DL MTD ca agent unic, deoarece apariția DLT la 2 pacienți pentru acel DL ca agent unic și determinarea rezultată a MTD exclude creșterea ulterioară a dozei.

Durata studiului

Perioada de tratament din studiu este de la 6 la 12 luni, în funcție de modul în care un pacient individual răspunde la tratament. Perioada de urmărire este de 6 luni pentru toți pacienții.

Dimensiunea eșantionului: numărul exact de pacienți înscriși depinde de apariția DLT-urilor definite de protocol și de numărul de DL care se vor deschide. Mărimea eșantionului pentru creșterea dozei cu agent unic REGN2810 în limfom (B-NHL și HL) este de până la 12 pacienți. Dimensiunea eșantionului pentru bsAb1 ca un agent singur la pacienții cu LLA este de până la 42 de pacienți (în funcție de DL la care se deschide acest braț). Dimensiunea eșantionului pentru creșterea dozei de tratament combinat la pacienții cu LNH-B este de până la 42 de pacienți (în funcție de DL la care se deschide acest braț). Dimensiunea eșantionului pentru creșterea dozei de tratament combinat la pacienții cu LLA este de până la 42 de pacienți (în funcție de DL la care se deschide acest braț). Fiecare cohortă de extindere va înscrie 20 de pacienți, pentru un total de 180 de pacienți.

Tratamente și Administrare în Studiu

bsAb1 este furnizat sub formă de lichid în flacoane sterile de unică folosință.

Fiecare flacon conține un volum extras de 1 ml de bsAb1 la o concentrație de 2 mg/ml. Un farmacist sau o altă persoană calificată este identificată la fiecare loc pentru a pregăti bsAb1 pentru administrare. Doza (dozele) primite sunt conform alocării nivelului de doză pentru cohortă. Doza administrată la fiecare nivel de doză este o doză precisă și nu depinde de greutatea pacientului sau de suprafața corpului. Fiecare doză de bsAb1 este administrată prin perfuzie intravenoasă (IV) timp de cel puțin 60 de minute. Timpul de perfuzie poate fi prelungit până la 4 ore, conform aprecierii clinice a medicului. În plus, investigatorul poate alege să împartă doza în 2 perfuzii separate timp de 2 zile (de preferință consecutive).

REGN2810 este furnizat ca lichid în flacoane sterile de unică folosință. Fiecare flacon conține un volum suficient pentru a extrage 10 ml de REGN2810 la o concentrație de 25 mg/ml. REGN2810 va fi administrat sub formă de perfuzie IV de 30 de minute. Doza fiecărui pacient va depinde de greutatea corporală individuală. Doza de REGN2810 trebuie ajustată pentru modificări ale greutății corporale de $\geq 10\%$. Ajustările dozei pentru modificări ale greutății corporale $<10\%$ sunt la latitudinea investigatorului.

În vizitele de studiu în care se administrează atât bsAb1, cât și REGN2810, REGN2810 este administrat mai întâi.

Premedicația cu dexametazonă cu cel puțin 1 oră înainte de perfuzie este necesară înainte de administrarea bsAb1 în doze de 300 mcg sau mai mari. Se recomandă cel puțin 7,5 mg dexametazonă cu prima administrare a dozei inițiale de bsAb1 și prima administrare a dozei mai mari ulterioare (treapta dozei). Dacă pacientul tolerează perfuziile fără semne sau simptome de reacție legată de perfuzie sau sindrom de eliberare de citokine (CRS), investigatorul poate reduce sau elimina doza de premedicație cu dexametazonă administrată înainte de perfuziile ulterioare, după cum este necesar, pe baza judecății clinice. Premedicația cu antihistaminice și/sau acetaminofen poate fi, de asemenea, luată în considerare. La doze mai mici de 300 mcg de bsAb1, premedicația empirică cu antihistaminice, acetaminofen și/sau

corticosteroizi înainte de perfuzia medicamentului studiat nu este recomandată, cu excepția cazului în care pacientul a prezentat reacții legate de perfuzie sau CRS de grad 2 sau mai mare cu o perfuzie anterioară de bsAb1.

Se recomandă ca pacienții cu LLA care prezintă un risc ridicat de sindrom de eliberare de citokine (CRS) și/sau TLS (definit prin $\geq 50\%$ limfoblaste în măduva osoasă; lactat dehidrogenază [LDH] ≥ 500 U/L; sau implicare extramedulară) să primească o profază de dexametazonă. Dexametazona profază trebuie să fie de 10 mg/m² în fiecare zi (QD) timp de minim 3 zile și maxim 5 zile. Profaza dexametazonă trebuie întreruptă ≥ 72 de ore înainte de inițierea medicamentului(lor) de studiu.

În momentul recăderii sau progresiei, pacienții pot fi luați în considerare pentru retratament. Pacienții cu un răspuns suboptimal pot fi, de asemenea, luați în considerare pentru retratament. Alegerea retratamentului (adăugarea de REGN2810, bsAb1 sau o doză mai mare din tratamentul pe care pacientul îl primește deja) va depinde de tratamentul inițial pe care pacientul l-a primit în studiu (de exemplu, bsAb1 ca un singur agent, REGN2810 sau terapie combinată), și care cohorte au siguranța clară în momentul în care pacientul este luat în considerare pentru retratament. Toate deciziile pentru retratament vor fi luate după discuții între investigatorul care tratează și sponsor. Retratamentul va fi la cel mai mare DL care a fost considerat sigur și tolerabil în momentul recăderii sau progresiei. Înainte de retratament, pacienților li se va cere să semneze din nou consimțământul informat și să îndeplinească criteriile de eligibilitate pentru retratament. Pentru pacienții care au primit terapie cu agent unic, dacă medicul curant consideră că este în interesul pacientului să primească terapie combinată în caz de recidivă sau progresie, pacientul poate trece la tratamentul combinat la nivelul de doză combinată care a fost considerat sigur și tolerabil în momentul în care pacientul este luat în considerare pentru retratament.

Obiectivele studiului

Obiectivul principal este siguranța (în special, evenimentele adverse [AE], DLT-urile, datele de laborator privind siguranța și constatările clinice). Obiectivele secundare sunt: (i) PK a bsAb1 și REGN2810 atunci când sunt administrate singure și în combinație; (ii) Imunogenitate: anticorpi anti-bsAb1 și/sau anti-REGN2810; (iii) Activitate antitumorală: (a) Rata generală de răspuns conform criteriilor de răspuns aplicabile pentru indicație; (b) Durata răspunsului și supraviețuirea fără progresie la 6 și 12 luni; (c) evaluarea bolii cu reziduuri minime (MRD) pentru pacienții cu afectare a măduvei osoase la momentul inițial; și (iv) Măsurile farmacodinamice, inclusiv profilarea citokinelor, subseturile de celule B și celule T din sângele periferic și fenotiparea imună, analiza ocupării PD-1 a celulelor T circulante, modificările expresiei genelor în sângele periferic și imunoglobulina serică.

Modificarea procentuală față de valoarea inițială a dimensiunii tumorii țintă este de asemenea notată și rezumată.

Proceduri și Evaluări

Procedurile de screening care trebuie efectuate includ fracția de ejeecție cardiacă și RMN cerebral.

Procedurile de siguranță includ antecedentele medicale, examenul fizic, semnele vitale, electrocardiograma (ECG), coagularea, testele de siguranță imunitară (pentru pacienții tratați cu REGN2810), evaluarea simptomelor B și evaluarea stării de performanță, testele clinice de laborator, AE și medicamentele concomitente.

Procedurile de eficacitate care trebuie efectuate pentru evaluarea tumorii includ scanări CT sau RMN, tomografie cu emisie de pozitroni cu 18F-fluorodeoxiglucroză (FDG-PET), aspirat de măduvă osoasă și biopsii (BMA/Bx), puncție lombară, biopsii de ganglioni limfatici și/sau tumori.

Pacienții cu NHL și cu HL sunt evaluați conform criteriilor Cheson (Cheson și colab. 2007, J. Clin. Oncol. 25(5):579-86). Pacienții cu boală avidă cu fluorodeoxiglucroză (FDG) sunt, de asemenea, evaluați conform clasificării Lugano (Cheson și colab. 2014, J. Clin. Oncol 32:3059-3067). Pacienții cu LLA sunt evaluați conform Ghidurilor NCCN 2014.

Evaluarea prezenței MRD în probele de măduvă osoasă este efectuată central prin reacția în lanț a polimerazei (PCR). Determinarea răspunsului MRD este efectuată conform Bruggemann și colab. (Leukemia 2010, 24:521-35) la pacienții cu LLA, limfom folicular și limfom de zonă marginală.

Sunt colectate probe de sânge pentru evaluarea PK și a anticorpilor antidrog (ADA).

Probele de biomarkeri sunt colectate pentru a monitoriza modificările producției de citokine, nivelurile serice ale citokinelor proinflamatorii și modificările subgrupurilor de limfocite și starea de activare. În plus, aceste probe permit analize genetice tumorale sau somatice pentru variații care influențează cursul clinic al bolii de bază sau modulează efectele secundare ale tratamentului.

Siguranță

Un eveniment advers (AE) orice apariție medicală nefavorabilă la un pacient cărui i s-a administrat un medicament de studiu care poate sau nu să aibă o relație cauzală cu medicamentul de studiu. Prin urmare, un AE este orice semn nefavorabil și neintenționat (inclusiv descoperirea anormală de laborator), simptom sau boală care este asociată temporar cu utilizarea unui medicament de studiu, indiferent dacă este sau nu considerat legat de medicamentul studiat. Un AE include, de asemenea, orice agravare (adică orice modificare semnificativă clinic a frecvenței și/sau intensității) a unei afecțiuni preexistente care este asociată temporar cu utilizarea medicamentului de studiu. Progresia malignității subiacente nu va fi considerată un AE dacă este în mod clar în concordanță cu modelul tipic de progresie a cancerului de bază (inclusiv evoluția în timp, organele afectate etc.). Simptomele clinice de progresie pot fi raportate ca AE dacă simptomul nu poate fi determinat ca fiind exclusiv datorat progresiei malignității de bază sau nu se potrivește cu modelul așteptat de progresie pentru boala studiată. Un AE grav (SAE) este orice eveniment medical nefavorabil care, la orice doză, duce la deces, pune viața în pericol, necesită spitalizare, are ca rezultat o invaliditate persistentă sau semnificativă și/sau este un eveniment medical important.

Pacienții sunt monitorizați pentru semne vitale, siguranța generală, sindromul de eliberare de citokine, epuizarea celulelor B, toxicitatea SNC și pentru AE mediate imun.

Planul statistic

Cohorte de creștere a dozelor: Proiectul studiului se bazează pe un proiect tradițional 3+3 cu 3 până la 6 pacienți per DL.

Cohorte de expansiune: Mărimea eșantionului de 20 de pacienți pentru fiecare cohortă de expansiune este determinată pe baza considerației clinice pentru a explora în continuare siguranța RP2D în cohortele de expansiune. Dimensiunea eșantionului de 20 de pacienți oferă, de asemenea, o evaluare preliminară a răspunsului tumoral.

Toate AE raportate în acest studiu sunt codificate folosind versiunea disponibilă în prezent a Dicționarului medical pentru activități de reglementare (MedDRA®). Codarea se referă la termenii de cel mai scăzut nivel. Sunt enumerate termenii cuvânt cu cuvânt, termenul preferat (PT) și clasa primară de sisteme și organe (SOC).

Rezumatele tuturor evenimentelor adverse apărute în urma tratamentului (TEAE) pe brațul de tratament includ: (i) numărul (n) și procentul (%) de pacienți cu cel puțin 1 TEAE după SOC și PT; (ii) TEAE după severitate, prezentate de SOC și PT; și (iii) TEAE în funcție de relația cu tratamentul (conexe, fără legătură), prezentate de SOC și PT. Sunt enumerate decesele și alte evenimente adverse grave (SAE) și rezumate pe brațul de tratament. Evenimentele adverse apărute în timpul tratamentului care duc la întreruperea definitivă a tratamentului sunt enumerate și rezumate pe brațul de tratament.

Analize de eficacitate

Este rezumat răspunsul tumoral obiectiv, determinat de criterii relevante pentru boală. Durata răspunsului și supraviețuirea fără progresie la 6 și 12 luni sunt enumerate și rezumate de estimatorul Kaplan-Meier, dacă este necesar. Starea bolii cu reziduuri minime este listată și rezumată. Supraviețuirea fără progresie este listată și rezumată. Modificarea procentuală față de valoarea inițială a dimensiunii tumorii țintă este de asemenea rezumată.

Rezultate

Este de așteptat ca anticorpii singuri și în combinație să fie siguri și bine tolerați de către pacienți. Administrarea REGN2810 singur sau în combinație cu bsAb1 este de așteptat să inhibe creșterea tumorii și/sau să promoveze regresia tumorii la pacienții cu B-NHL sau HL indolent sau agresiv. Este de așteptat ca pacienții cu LLA cărora li s-a administrat bsAb1 singur sau în combinație cu REGN2810 să prezinte inhibare a creșterii tumorii și/sau remisiune. Rata generală de răspuns este de așteptat să fie mai bună pentru terapia combinată în comparație cu oricare dintre monoterapii.

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- US-A1- 2015 166 661
- Anonymous: "Study of REGN2810 and REGN1979 in Patients With Lymphoma or Acute Lymphoblastic Leukemia", , 16 November 2016 (2016-11-16), XP055354986, Retrieved from the Internet: URL:<https://api.liveclinicaltrials.com/trialpage?dcn=10963&city=Baltimore&country=United States&start=20&state=Maryland&conditions=lymphoma&id=207048402254> [retrieved on 2017-03-15]
- US-A1- 2015 166 661
- Anonymous: "A Phase 1 Study to Assess Safety and Tolerability of REGN1979, an anti-CD20 x anti-CD3 bispecific monoclonal antibody, and REGN2810, an anti-programmed death-1 (PD-1) monoclonal antibody", EU Clinical Trials Register, retrieved on 16-03-2017, 1 December 2015 (2015-12-01), XP055355652, Retrieved from the Internet: URL:<https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search?query=2015-001697-17> [retrieved on 2017-03-16]
- US-A1- 2015 166 661
- Anonymous: "Clinical Trials Register: A Phase 1 Study to Assess Safety and Tolerability of REGN1979, an anti-CD20 x anti-CD3 bispecific monoclonal antibody, and REGN2810, an anti-programmed death-1 (PD-1) monoclonal antibody, in Patients with B-cell Malignancies; retrieved on 14-03-2017", , 15 October 2015 (2015-10-15), XP055354812, Retrieved from the Internet: URL:<https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2015-001697-17/ES> [retrieved on 2017-03-14]
- Anonymous: "Study of REGN2810 and REGN1979 in Patients With Lymphoma or Acute Lymphoblastic Leukemia | Smart Patients; retrived on 16-03-2017", , 1 November 2015 (2015-11-01), XP055355625, Retrieved from the Internet: URL:<https://www.smartpatients.com/trials/NCT02651662> [retrieved on 2017-03-16]
- Anonymous: "Study of REGN2810 and REGN1979 in Patients With Lymphoma or Acute Lymphoblastic Leukemia", , 16 November 2016 (2016-11-16), XP055354986, Retrieved from the Internet: URL:<https://api.liveclinicaltrials.com/trialpage?dcn=10963&city=Baltimore&country=United States&start=20&state=Maryland&conditions=lymphoma&id=207048402254> [retrieved on 2017-03-15]
- Anonymous: "A Phase 1 Study to Assess Safety and Tolerability of REGN1979, an anti-CD20 x anti-CD3 bispecific monoclonal antibody, and REGN2810, an anti-programmed death-1 (PD-1) monoclonal antibody", EU Clinical Trials Register, retrieved on 16-03-2017, 1 December 2015 (2015-12-01), XP055355652, Retrieved from the Internet: URL:<https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search?query=2015-001697-17> [retrieved on 2017-03-16]
- Anonymous: "Clinical Trials Register: A Phase 1 Study to Assess Safety and Tolerability of REGN1979, an anti-CD20 x anti-CD3 bispecific monoclonal antibody, and REGN2810, an anti-programmed death-1 (PD-1) monoclonal antibody, in Patients with B-cell Malignancies; retrieved on 14-03-2017", , 15 October 2015 (2015-10-15), XP055354812, Retrieved from the Internet: URL:<https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2015-001697-17/ES> [retrieved on 2017-03-14]
- Anonymous: "Study of REGN2810 and REGN1979 in Patients With Lymphoma or Acute Lymphoblastic Leukemia | Smart Patients; retrived on 16-03-2017", , 1 November 2015 (2015-11-01), XP055355625, Retrieved from the Internet: URL:<https://www.smartpatients.com/trials/NCT02651662> [retrieved on 2017-03-16]
- T Feuchtinger ET AL: "Leukemia Related Co-Stimulation / Co-Inhibition Predict T-Cell Attack of Acute Lymphoblastic Leukemia Mediated By Blinatumomab", Blood Journal, 3 December 2015 (2015-12-03), XP055355717, Retrieved from the Internet: URL:<http://www.bloodjournal.org/content/126/23/3764?sso-checked=true> [retrieved on 2017-03-16]
- Anonymous: "Study of REGN2810 and REGN1979 in Patients With Lymphoma or Acute Lymphoblastic Leukemia", , 16 November 2016 (2016-11-16), XP055354986, Retrieved from the Internet: URL:<https://api.liveclinicaltrials.com/trialpage?dcn=10963&city=Baltimore&country=United States&start=20&state=Maryland&conditions=lymphoma&id=207048402254>

- alpage?den=10963&city=Baltimore&country=United States&start=20&state=Maryland&conditions=lymphoma&id=207048402254 [retrieved on 2017-03-15]
- Anonymous: "A Phase 1 Study to Assess Safety and Tolerability of REGN1979, an anti-CD20 x anti-CD3 bispecific monoclonal antibody, and REGN2810, an anti-programmed death-1 (PD-1) monoclonal antibody", EU Clinical Trials Register, retrieved on 16-03-2017, 1 December 2015 (2015-12-01), XP055355652, Retrieved from the Internet: URL: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search?query=2015-001697-17> [retrieved on 2017-03-16]
 - Anonymous: "Clinical Trials Register: A Phase 1 Study to Assess Safety and Tolerability of REGN1979, an anti-CD20 x anti-CD3 bispecific monoclonal antibody, and REGN2810, an anti-programmed death-1 (PD-1) monoclonal antibody, in Patients with B-cell Malignancies; retrieved on 14-03-2017", 15 October 2015 (2015-10-15), XP055354812, Retrieved from the Internet: URL: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2015-001697-17/ES> [retrieved on 2017-03-14]
 - Anonymous: "Study of REGN2810 and REGN1979 in Patients With Lymphoma or Acute Lymphoblastic Leukemia | Smart Patients; retrieved on 16-03-2017", 1 November 2015 (2015-11-01), XP055355625, Retrieved from the Internet: URL: <https://www.smartpatients.com/trials/NCT02651662> [retrieved on 2017-03-16]
 - Anonymous: "REGENERON PHARMACEUTICALS INC FORM 10-K", retrieved on 16-03-2017, 12 February 2015 (2015-02-12), XP055355668, Retrieved from the Internet: URL: [http://www.zonebourse.com/REGENERON-PHARMACEUTICALS-10649/pdf/509484/Regeneron Pharmaceuticals _SEC-Filing-10K.pdf](http://www.zonebourse.com/REGENERON-PHARMACEUTICALS-10649/pdf/509484/Regeneron%20Pharmaceuticals%20SEC-Filing-10K.pdf) [retrieved on 2017-03-16]
 - Elias Jabbour ET AL: "Review Series ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA Monoclonal antibodies in acute lymphoblastic leukemia", 25 June 2015 (2015-06-25), XP055355722, DOI: 10.1182/blood-2014-08-XXXXXX, Retrieved from the Internet: URL: <http://www.bloodjournal.org/content/bloodjournal/125/26/4010.full.pdf> [retrieved on 2017-03-16]
 - Damian Garde: "Regeneron says its allergy drug could be as big as PCSK9 blockers | FierceBiotech", 11 February 2015 (2015-02-11), XP055355640, Retrieved from the Internet: URL: <http://www.fiercebiotech.com/r-d/regeneron-says-its-allergy-drug-could-be-as-big-as-pcsk9-blockers> [retrieved on 2017-03-16]

(57) Revendicări:

1. Un anticorp sau un fragment de legare la antigen al acestuia care leagă în mod specific moartea programată 1 (PD-1) pentru utilizare într-o metodă de tratare a limfomului non-Hodgkin cu celule B în combinație cu un anticorp bispecific care cuprinde un prim braț de legare la antigen care leagă în mod specific CD20 și un al doilea braț de legare la antigen care leagă în mod specific CD3, numita metodă cuprinzând administrarea unui subiect care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente terapeutic din fiecare anticorp sau fragment al acestuia, în care:

anticorpu anti-PD-1 sau fragmentul acestuia de legare la antigen cuprinde trei regiuni de determinare a complementarității lanțului greu (CDR) (HCDR1, HCDR2 și HCDR3) și trei CDR ale lanțului ușor (LCDR1, LCDR2 și LCDR3), în care HCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 3; HCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 4; HCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 5; LCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 6; LCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 7; și LCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 8;

primul braț de legare a antigenului al anticorpului bispecific cuprinde trei regiuni de determinare a complementarității cu lanț greu (CDR-uri) (A-HCDR1, A-HCDR2 și A-HCDR3) și trei CDR-uri de lanț ușor (LCDR1, LCDR2 și LCDR3), în care A-HCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 14; A-HCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 15; A-HCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 16; LCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 17; LCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 18; și LCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 19;

al doilea braț de legare a antigenului al anticorpului bispecific cuprinde trei CDR-uri cu lanț greu (B-HCDR1, B-HCDR2 și B-HCDR3) și trei CDR-uri cu lanț ușor (LCDR1, LCDR2 și LCDR3), în care B-HCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 20; B-HCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 21; B-HCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 22; LCDR1

cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR 17; LCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 18; și LCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 19; și

fiecare doză de anticorp anti-PD-1 cuprinde 0.1 până la 20 mg/kg de greutate corporală a pacientului.

2. Un anticorp bispecific care cuprinde un prim braț de legare la antigen care leagă în mod specific CD20 și un al doilea braț de legare la antigen care leagă în mod specific CD3 pentru utilizare într-o metodă de tratare a limfomului non-Hodgkin cu celule B în combinație cu un anticorp sau un fragment de legare la antigen al acestuia care leagă în mod specific moartea programată 1 (PD-1), numita metodă cuprinzând administrarea unui subiect care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente terapeutic din fiecare anticorp sau fragment al acestuia, în care:

anticorpul anti-PD-1 sau fragmentul acestuia de legare la antigen cuprinde trei regiuni de determinare a complementarității lanțului greu (CDR) (HCDR1, HCDR2 și HCDR3) și trei CDR ale lanțului ușor (LCDR1, LCDR2 și LCDR3), în care HCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 3; HCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 4; HCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 5; LCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 6; LCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 7; și LCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 8;

primul braț de legare a antigenului al anticorpului bispecific cuprinde trei regiuni de determinare a complementarității cu lanț greu (CDR-uri) (A-HCDR1, A-HCDR2 și A-HCDR3) și trei CDR-uri de lanț ușor (LCDR1, LCDR2 și LCDR3), în care A-HCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 14; A-HCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 15; A-HCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 16; LCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR 17; LCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 18; și LCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 19;

al doilea braț de legare a antigenului al anticorpului bispecific cuprinde trei CDR-uri cu lanț greu (B-HCDR1, B-HCDR2 și B-HCDR3) și trei CDR-uri cu lanț ușor (LCDR1, LCDR2 și LCDR3), în care B-HCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 20; B-HCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 21; B-HCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 22; LCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR 17; LCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 18; și LCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 19; și

fiecare doză de anticorp anti-PD-1 cuprinde 0,1 până la 20 mg/kg de greutate corporală a pacientului.

3. O compoziție farmaceutică pentru utilizare într-o metodă de tratare a limfomului non-Hodgkin cu celule B, numita compoziție cuprinzând un anticorp sau un fragment de legare la antigen al acestuia care leagă în mod specific moartea programată 1 (PD-1) și un anticorp bispecific care cuprinde un prim braț de legare la antigen care leagă în mod specific CD20 și un al doilea braț de legare la antigen care leagă în mod specific CD3, în care:

anticorpul anti-PD-1 sau fragmentul acestuia de legare la antigen cuprinde trei regiuni de determinare a complementarității lanțului greu (CDR) (HCDR1, HCDR2 și HCDR3) și trei CDR ale lanțului ușor (LCDR1, LCDR2 și LCDR3), în care HCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 3; HCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 4; HCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 5; LCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 6; LCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 7; și LCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 8;

primul braț de legare a antigenului al anticorpului bispecific cuprinde trei CDR-uri cu lanț greu (A-HCDR1, A-HCDR2 și A-HCDR3) și trei CDR-uri de lanț ușor (LCDR1, LCDR2 și LCDR3), în care A-HCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 14; A-HCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 15; A-HCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 16; LCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR 17; LCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 18; și LCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 19;

al doilea braț de legare a antigenului al anticorpului bispecific cuprinde trei CDR-uri cu lanț greu (B-HCDR1, B-HCDR2 și B-HCDR3) și trei CDR-uri cu lanț ușor (LCDR1, LCDR2 și LCDR3), în care B-HCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 20; B-HCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 21; B-HCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 22; LCDR1 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR 17; LCDR2 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 18; și LCDR3 cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 19; și

compoziția cuprinde 0,05 până la 600 mg de anticorp anti-PD-1.

4. Anticorpul sau un fragment de legare la antigen care leagă în mod specific PD-1 pentru utilizare conform revendicării 1 sau anticorpul bispecific pentru utilizare conform revendicării 2, în care:

(a) fiecare doză de anticorp anti-PD-1 cuprinde 0,3, 1, 3 sau 10 mg/kg din greutatea corporală a subiectului; sau

(b) fiecare doză de anticorp anti-PD-1 cuprinde 0,05 până la 600 mg.

5. Anticorpul, un fragment de legare la antigen sau anticorpul bispecific pentru utilizare conform revendicărilor 1, 2 sau 4, în care:

(a) fiecare doză de anticorp bispecific cuprinde 0,1 până la 10 mg/kg din greutatea corporală a subiectului; sau

(b) fiecare doză de anticorp bispecific cuprinde 10 până la 8000 micrograme,

optional în care fiecare doză de anticorp anti-PD-1 cuprinde 1, 3 sau 10 mg/kg și fiecare doză de anticorp bispecific cuprinde 30, 100, 300, 1000 sau 2000 micrograme.

6. Anticorpul, un fragment de legare la antigen sau anticorpul bispecific pentru utilizare conform oricăreia din revendicărilor 1, 2, 4 sau 5, în care:

(a) fiecare doză de anticorp anti-PD-1 este administrată 0,5 -12 săptămâni după doza imediat precedentă;

(b) fiecare doză de anticorp bispecific este administrată 0,5 -12 săptămâni după doza imediat precedentă, optional în care fiecare doză de anticorp anti-PD-1 este administrată o dată la două săptămâni, sau a dată la trei săptămâni, și fiecare doză de anticorp bispecific este administrată o dată pe săptămână, și/sau

(c) fiecare doză de anticorp bispecific este împărțită în 2-5 fracții pe perioada dozării.

7. Anticorpul, un fragment de legare la antigen sau anticorpul bispecific pentru utilizare conform oricăreia din revendicărilor 1, 2, 4, 5 sau 6, în care anticorpul anti-PD-1 este administrat înainte de, concomitent cu sau după anticorpul bispecific, optional în care anticorpul anti-PD-1 este administrat înainte de anticorpul bispecific, astfel în care anticorpul anti-PD-1 este administrat cu 1 săptămână înainte de anticorpul bispecific.

8. Anticorpul, un fragment de legare la antigen, anticorpul bispecific sau compoziția farmaceutică pentru utilizare conform oricăreia din revendicărilor 1 – 7, în care anticorpii sunt administrați intravenos, subcutanat sau intraperitoneal.

9. Anticorpul, fragmentul de legare la antigen, anticorpul bispecific sau compoziția farmaceutică pentru utilizare conform oricăreia din revendicărilor 1 – 8, în care:

(a) subiectul este rezistent sau răspunde inadecvat la sau a recidivat după terapia anterioară;

(b) tratamentul produce un efect terapeutic selectat din grupul constând în întârzierea creșterii tumorii, reducerea numărului de celule în tumoare, regresia tumorii, mărirea supraviețuirii, răspuns parțial și răspuns complet, optional în care creșterea tumorii este întârziată cu cel puțin 10% comparativ cu un subiect netratat; și/sau

(c) creșterea tumorii este inhibată cu cel puțin 10% comparativ cu un subiect netratat, sau creșterea tumorii este inhibată cu cel puțin 10% comparativ cu un subiect cărui i s-a administrat vreun anticorp drept monoterapie.

10. Anticorpul, un fragment de legare la antigen sau anticorpul bispecific pentru utilizare conform oricăreia din revendicărilor 1, 2, 4, 5 sau 6, în care anticorpul anti-PD-1 este administrat înainte de anticorpul bispecific și creșterea tumorii este inhibată cu cel puțin 20% comparativ cu un subiect cărui i s-a administrat un anticorp bispecific anti-CD20/anti-CD3 înainte de un anticorp anti-PD-1.

11. Anticorpul, un fragment de legare la antigen, anticorpul bispecific sau compoziția farmaceutică pentru utilizare conform oricăreia din revendicărilor 1–10, cuprinzând în plus administrarea subiectului a unui al treilea agent terapeutic sau terapie, în care al treilea agent terapeutic sau terapie este selectat din grupul constând din radiații, intervenții chirurgicale, un agent chimioterapeutic, un vaccin împotriva cancerului, un inhibitor PD-L1, un inhibitor LAG-3, un Inhibitor CTLA-4, un inhibitor TIM3, un inhibitor BTLA, un inhibitor TIGIT, un inhibitor CD47, un inhibitor al indoleamin-2,3-dioxigenazei (IDO), un antagonist al factorului de creștere endotelial vascular (VEGF), un inhibitor angiopoietină-2 (Ang2), un inhibitor al factorului de creștere transformator beta (TGFβ), un inhibitor al receptorului factorului de creștere epidermic (EGFR), un anticorp la un antigen specific tumorii, vaccin Bacillus Calmette-Guerin, factor de stimulare a coloniilor de granulocite-macrofage, o citotoxină, un inhibitor al receptorului de interleukină 6 (IL-6R), un inhibitor al receptorului de interleukină 4 (IL-4R), un inhibitor al IL-10, IL-2, IL- 7, IL-21, IL-15, un conjugat anticorp-medicament, un medicament antiinflamator și un supliment alimentar.

12. Anticorpul, un fragment de legare la antigen, anticorpul bispecific sau compoziția farmaceutică pentru utilizare conform oricăreia din revendicărilor 1–11, în care anticorpul anti-PD-1 sau fragmentul de legare la antigen al acestuia cuprinde:

(a) o regiune variabilă a lanțului greu (HCVR) care cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 1 și o regiune variabilă a lanțului ușor (LCVR) care cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 2; sau

(b) un lanț greu care cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 9 și un lanț ușor care cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 10.

13. Anticorpul, un fragment de legare la antigen, anticorpul bispecific sau compoziția farmaceutică pentru utilizare conform oricăreia din revendicările 1–12, în care:

primul braț de legare la antigen al anticorpului bispecific cuprinde un A-HCVR care cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 11 și un LCVR care cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 12.

14. Anticorpul, un fragment de legare la antigen, anticorpul bispecific sau compoziția farmaceutică pentru utilizare conform oricăreia din revendicările 1–13, în care al doilea braț de legare la antigen al anticorpului bispecific cuprinde un B-HCVR care cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 13 și un LCVR care cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NR: 12.

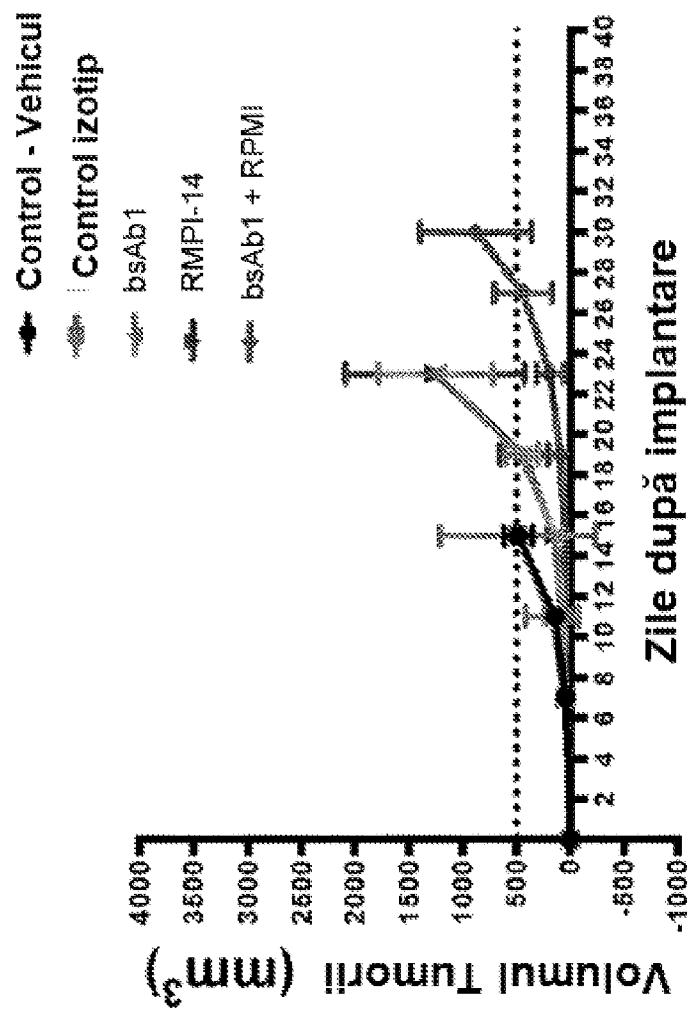


Figura 1

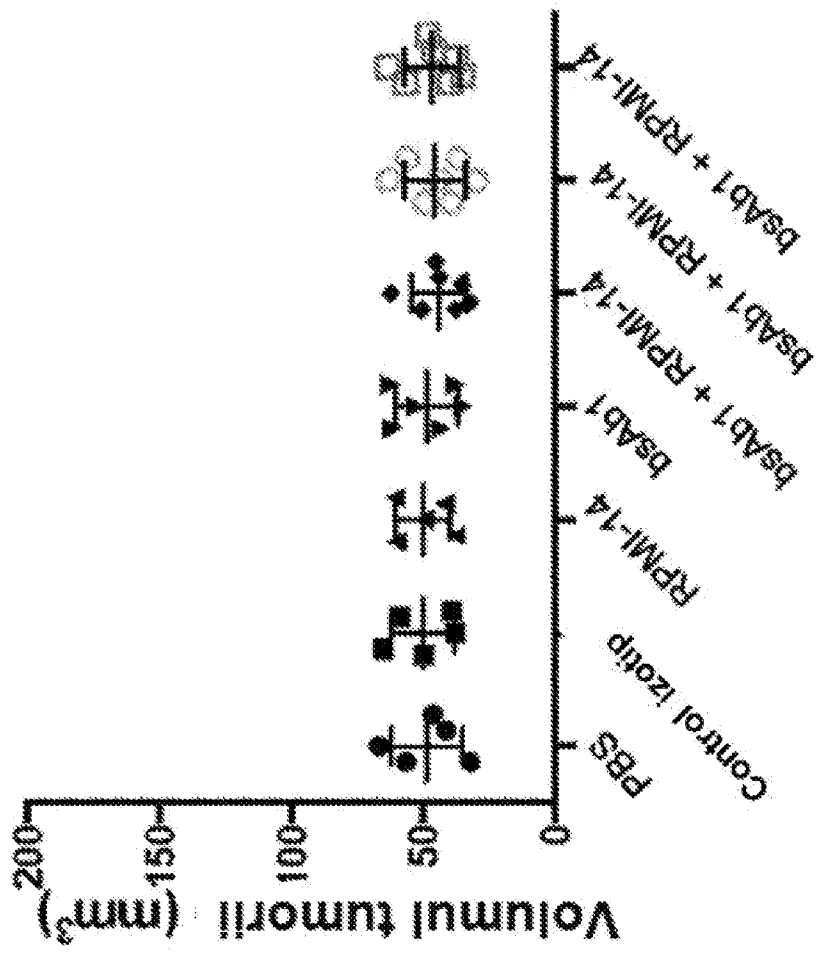


Figura 2

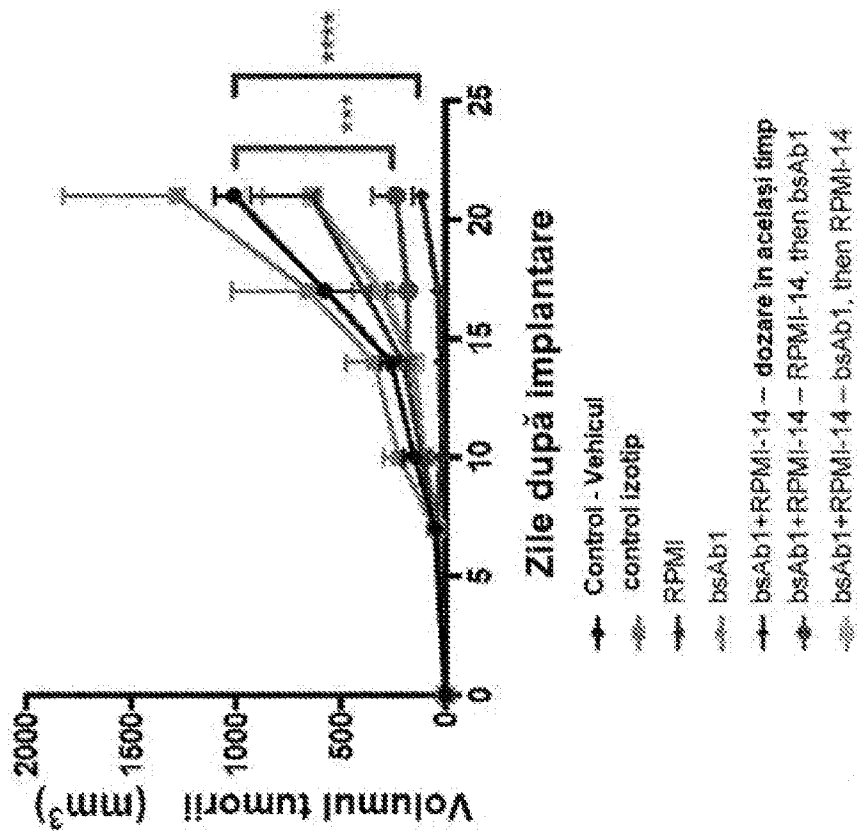


Figura 3

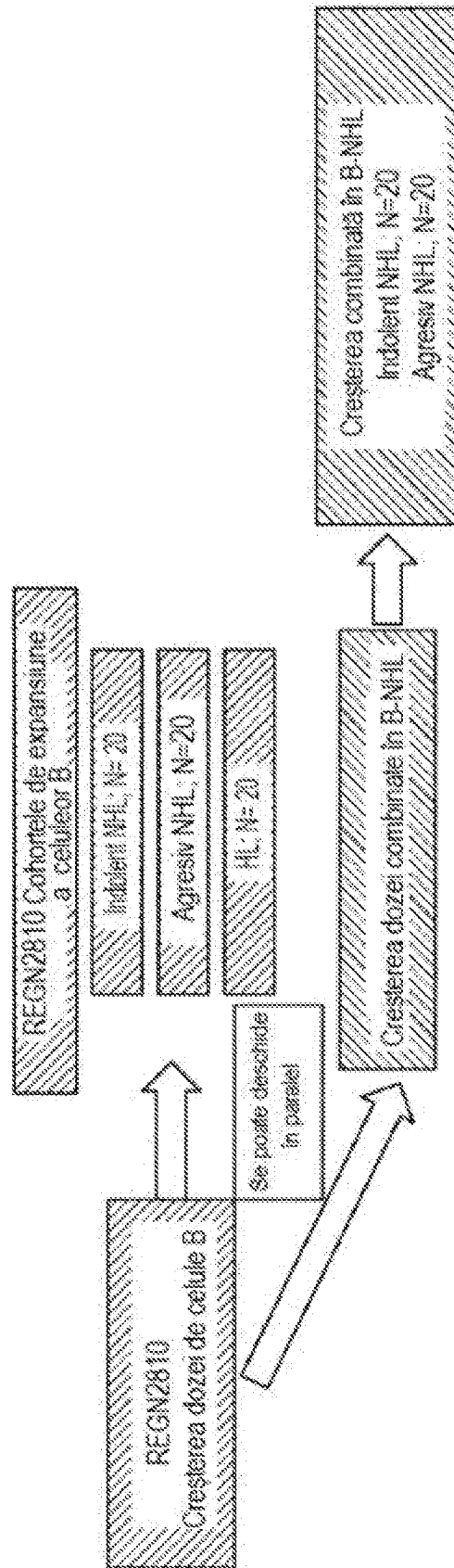


Figura 4

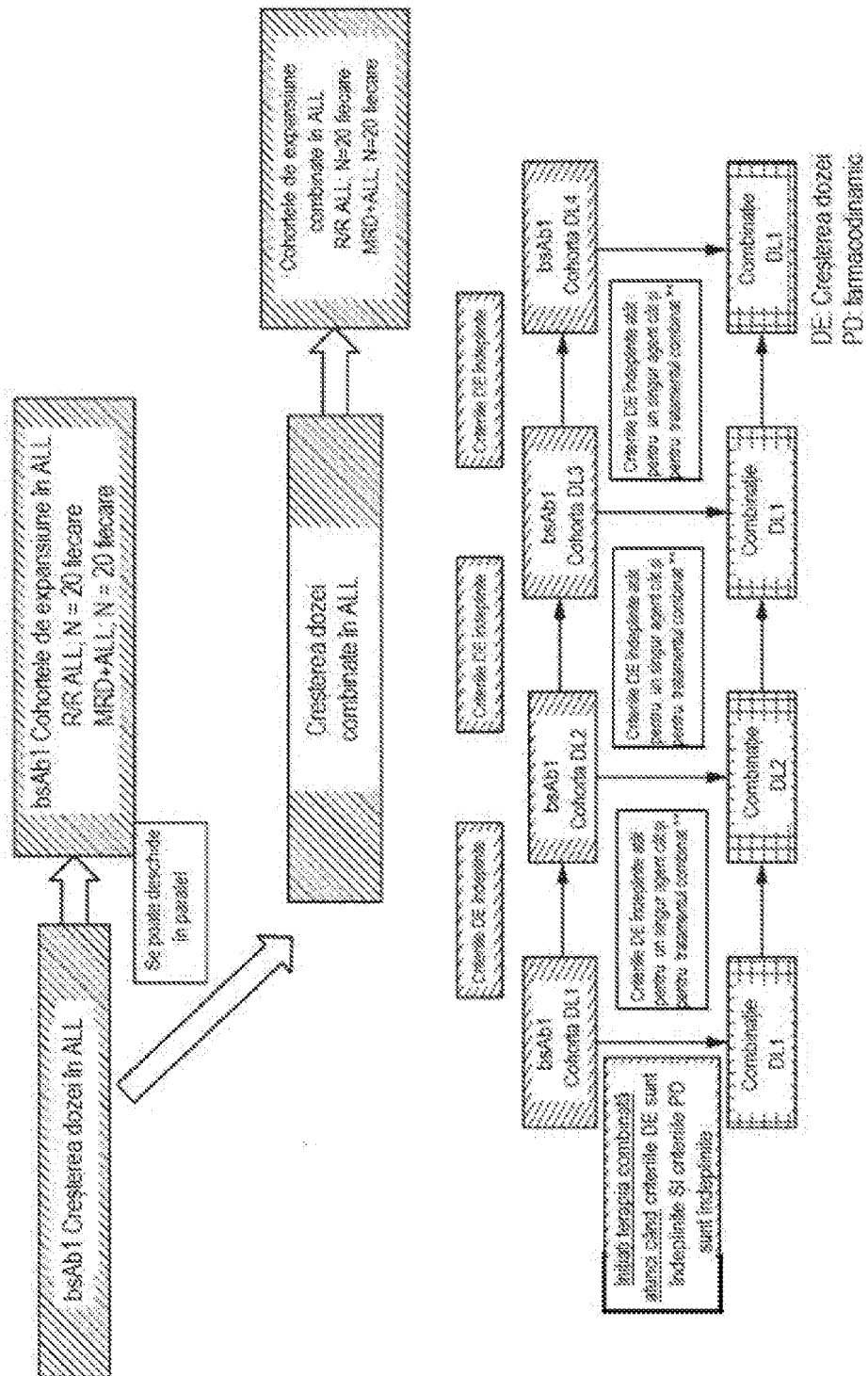


Figura 5

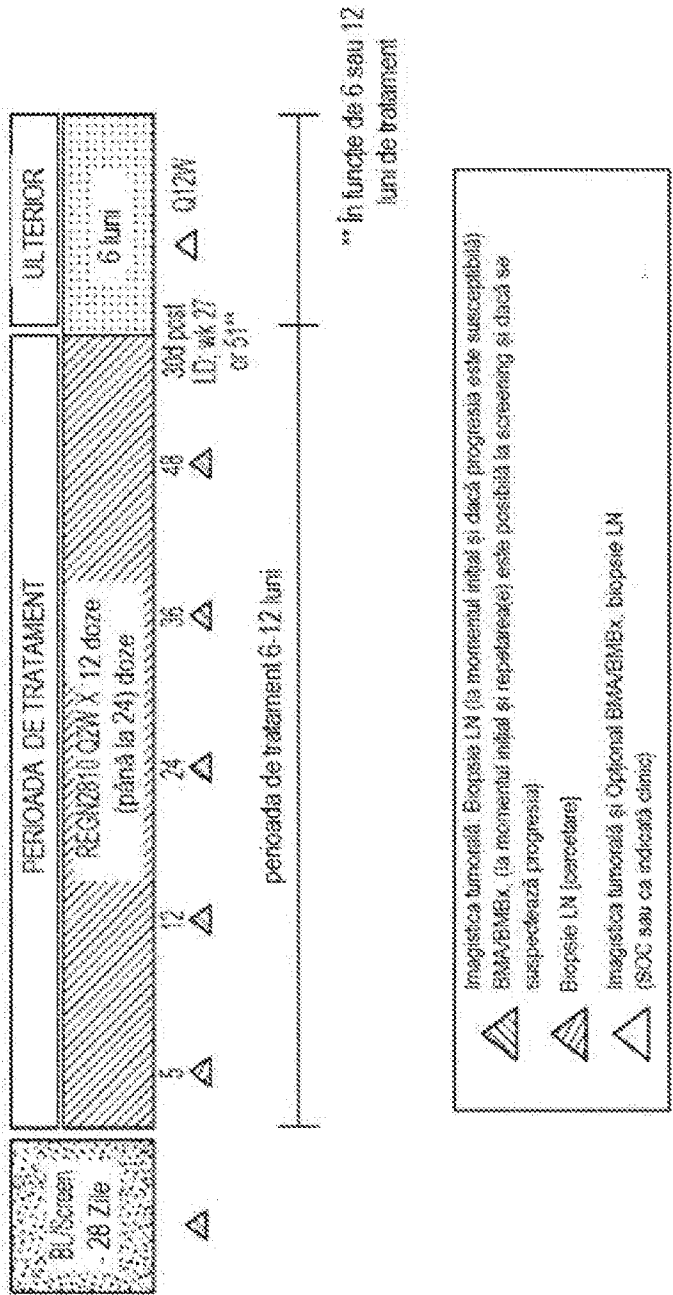


Figure 6

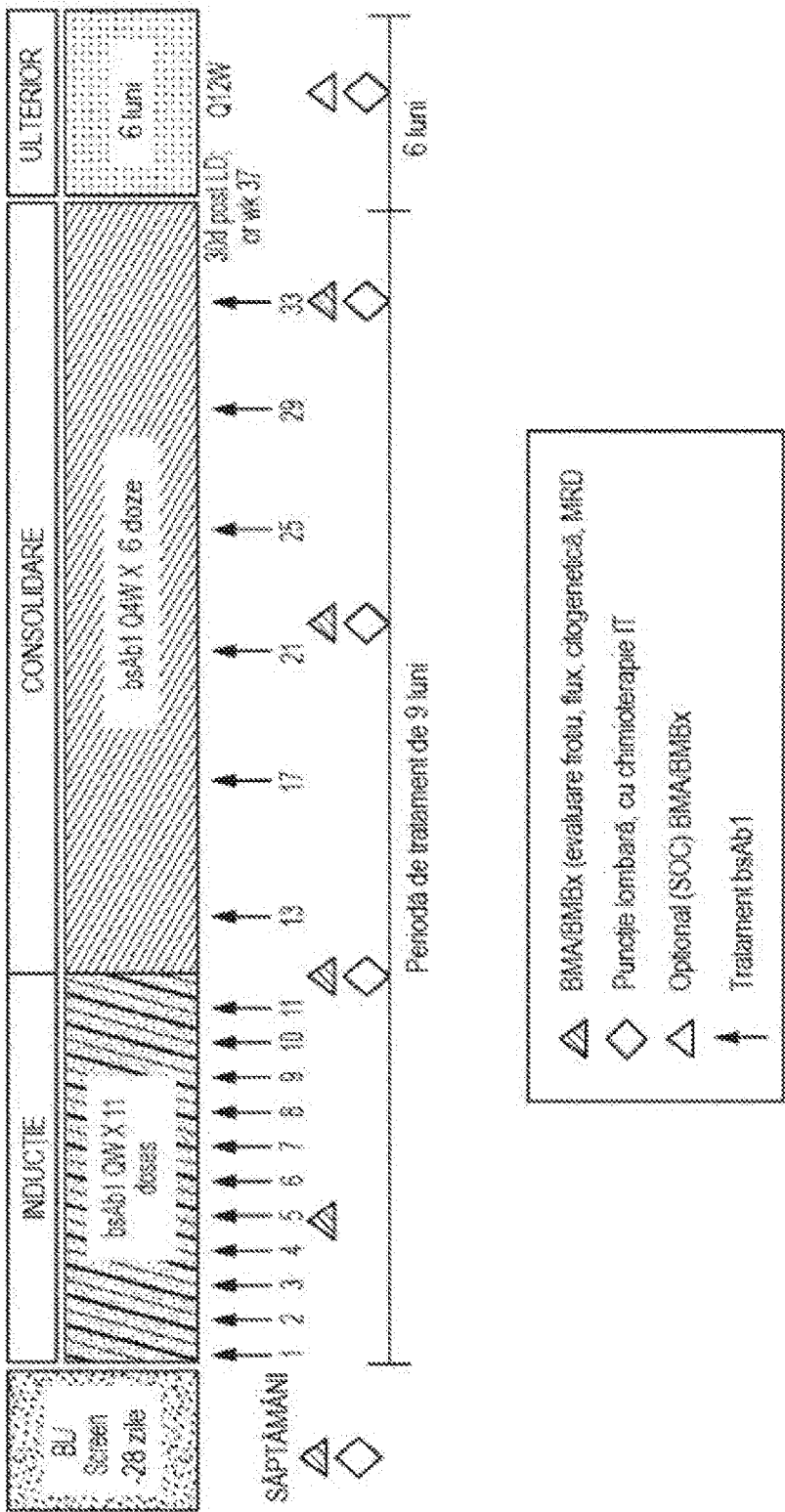


Figura 7

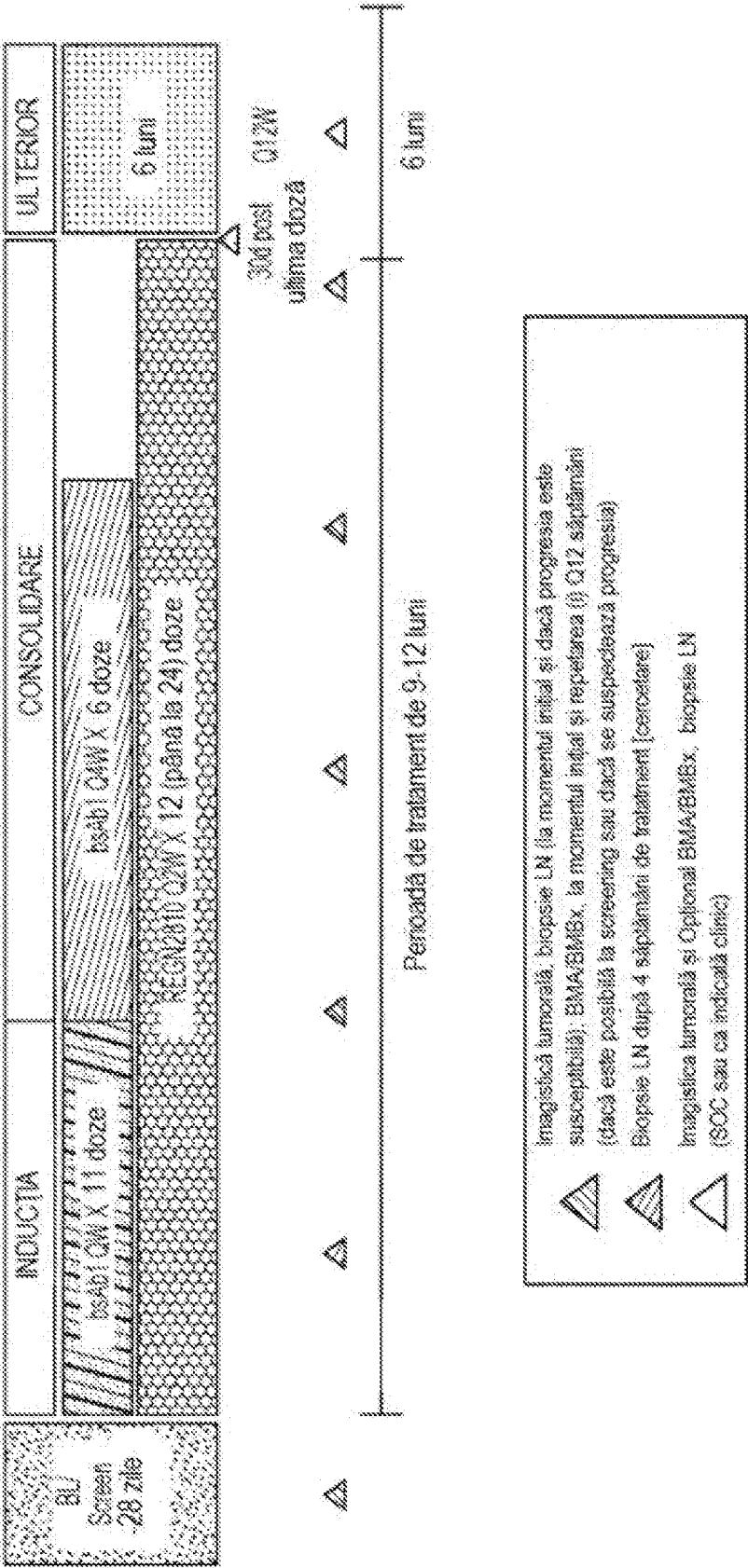


Figura 8

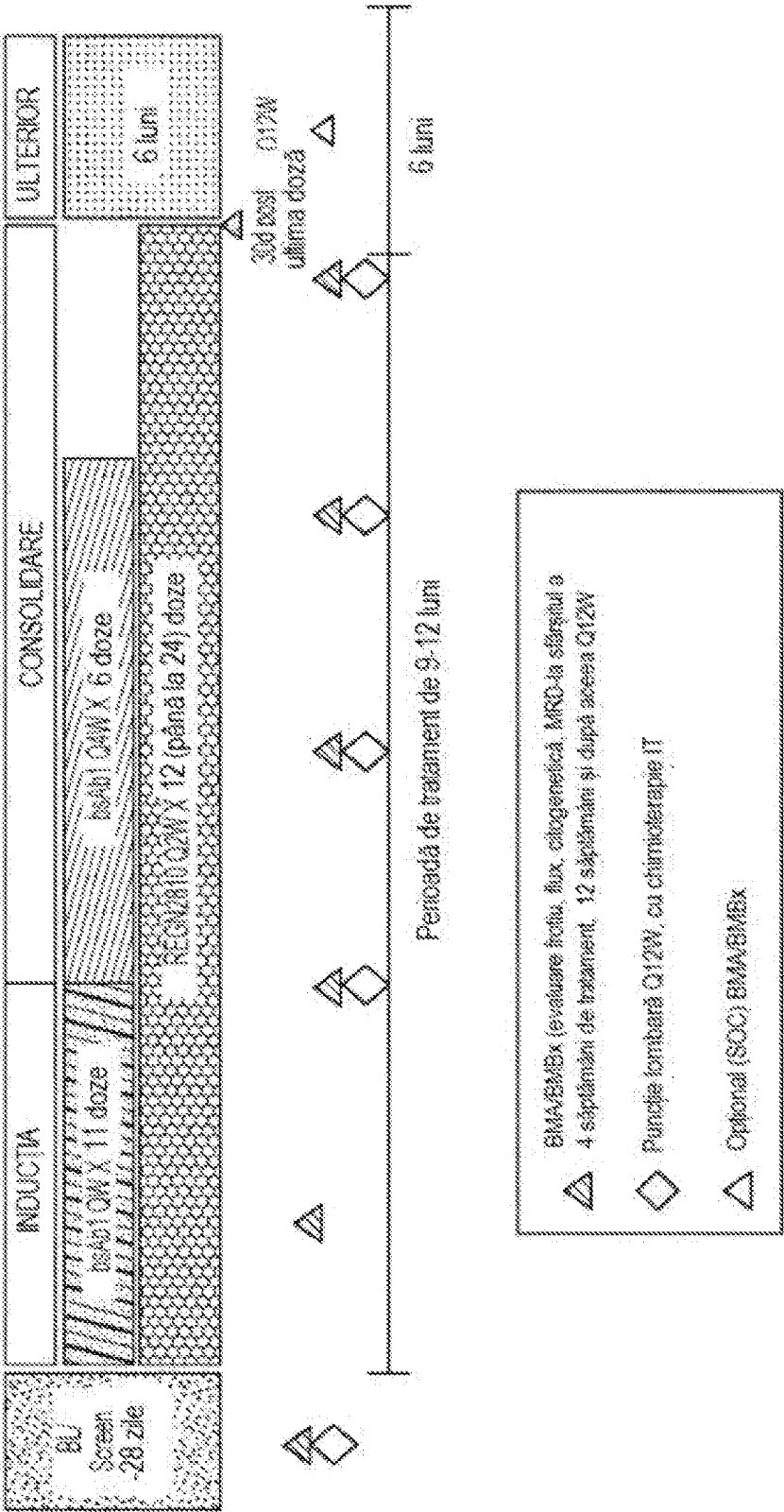


Figura 9