

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 943 640**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

A61N 5/00 (2006.01)

A61N 5/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.05.2017 PCT/US2017/032397**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.11.2017 WO17197259**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.05.2017 E 17727767 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.03.2023 EP 3455259**

54 Título: **Combinación de anticuerpos anti-PD-1 y radiación para tratar el cáncer**

30 Prioridad:

13.05.2016 US 201662335743 P

23.05.2016 US 201662340142 P

10.06.2016 US 201662348546 P

15.06.2016 US 201662350305 P

21.07.2016 US 201662364920 P

12.08.2016 US 201662374020 P

27.01.2017 US 201762451274 P

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

15.06.2023

73 Titular/es:

REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.
(100.0%)

777 Old Saw Mill River Road
Tarrytown, NY 10591, US

72 Inventor/es:

SKOKOS, DIMITRIS y
LOWY, ISRAEL

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

Observaciones:

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

ES 2 943 640 T3

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

DESCRIPCIÓN

Combinación de anticuerpos anti-PD-1 y radiación para tratar el cáncer

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a anticuerpos contra el receptor de muerte programada 1 (PD-1, del inglés *Programmed Death 1*) o fragmentos de unión a antígeno de los mismos para su uso en métodos de tratamiento del cáncer que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo

10 en combinación con radioterapia.

Antecedentes de la invención

La radioterapia utiliza las propiedades de la radiación ionizante que dañan el ADN para controlar el crecimiento tumoral y/o eliminar las células tumorales, y se ha utilizado ampliamente en las últimas seis décadas para el tratamiento de tumores localizados. La radioterapia puede potenciar efectos estimulantes sobre el sistema inmunitario, por ejemplo, debido a la liberación de antígenos tumorales. Sin embargo, la radiación también puede provocar efectos inmunosupresores, p. ej., la estimulación de células inmunitarias inhibitorias tales como los linfocitos T reguladores (Le *et al.*, 2015, *Clin. Cancer Res.* 21: 3393-3401).

El desarrollo de inhibidores del punto de control inmunitario para el tratamiento del cáncer ha despertado el interés por combinarlos con la radioterapia (Tang *et al.*, 2014, *Cancer Immunol. Res.* 2: 831-838; Teng *et al.*, 2015, *Cancer Lett.* 365: 23-29). Uno de estos inhibidores del punto de control inmunitario es la proteína de muerte programada 1 (PD-1). La señalización del receptor de PD-1 en el microambiente tumoral desempeña un papel clave a la hora de permitir que las células tumorales escapen a la vigilancia inmunitaria del sistema inmunitario del hospedador. El bloqueo de la vía del punto de control de linfocitos T PD-1/PD-L1 es un enfoque eficaz y bien tolerado para estimular la respuesta inmunitaria, y ha logrado respuestas objetivas significativas en el melanoma avanzado, el cáncer de células renales (CCR) y el cáncer de pulmón no microcítico (CPNM) (Topalian *et al.*, 2012, *New Engl. J. Med.* 366: 2443-2454). Sin embargo, es probable que el tratamiento óptimo requiera combinar el tratamiento con anticuerpos monoclonales anti-PD-1 con los tratamientos convencionales y enfoques inmunoterapéuticos novedosos. Los enfoques de combinación para estimular aspectos convergentes de la inmunidad del hospedador mediante el empleo de moduladores inmunitarios complementarios, así como aspectos inmunoestimuladores de modalidades convencionales tales como la radiación y la quimioterapia, pueden dar lugar al desarrollo de terapias contra el cáncer más eficaces.

El archivo ClinicalTrials.gov (identificador de ClinicalTrials.gov: NCT2383212) divulga un primer estudio en seres humanos de REGN2810 en pacientes con neoplasias malignas avanzadas. El documento WO 2015/112800 divulga anticuerpos que se unen a la proteína PD-1, y métodos terapéuticos y diagnósticos de uso de dichos anticuerpos. Ahmed *et al.*, (2015) *Annals of Oncology*, 27(3), 434-441 divulga los resultados clínicos de metástasis cerebrales de melanoma tratadas con radiación estereotáctica y tratamiento anti-PD-1. Mohiuddin *et al.*, (2015) *Cureus*, 7(12), e417 divulga la radiación de alta dosis como un espectacular cebador inmunológico en el melanoma localmente avanzado. Park *et al.*, (2015) *Cancer Immunol. Res.* 3(6), 610-619 divulga cómo PD-1 frena el efecto abscopal inducido por la radioterapia. Liniker *et al.*, (2015) *International Journal of Radiation Oncology*, suplemento 93(3), E653 divulga la seguridad y la actividad de la radioterapia combinada y los anticuerpos anti-PD-1 en pacientes con melanoma metastásico. Rengan *et al.*, (2006), en la presentación del curso anual de actualización de ASTRO divulga las posibles precauciones y las consideraciones clínicas prácticas asociadas con la repetición de la irradiación, el hipofraccionamiento y las nuevas terapias combinadas.

Breve resumen de la invención

La presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la proteína de muerte programada 1 (PD-1) para su uso en un método de tratamiento o inhibición del crecimiento de un tumor en un sujeto en combinación con radioterapia, comprendiendo dicho método:

- (a) seleccionar un sujeto con una primera lesión tumoral y al menos una segunda lesión tumoral distal a la primera lesión tumoral; y
- (b) administrar al sujeto que lo necesita una combinación de una o más dosis de radioterapia y una o más dosis de una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a PD-1, en donde el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende tres regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3),

en donde la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; y LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8; y en donde la radioterapia se administra en la primera lesión tumoral, pero no en la segunda lesión tumoral, y en

donde la administración de la combinación produce regresión tumoral tanto en la primera lesión tumoral como en la segunda lesión tumoral. Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los medicamentos de la presente invención para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia (o para diagnóstico).

De acuerdo con determinadas realizaciones, el cáncer comprende un tumor sólido. En determinadas realizaciones, la administración de la combinación da lugar a una eficacia terapéutica mejorada o una eficacia antitumoral en comparación con la administración del anticuerpo o del fragmento de unión a antígeno del mismo o de la radiación solos.

En determinadas realizaciones, el cáncer o tumor es un tumor sólido o neoplasia maligna. En determinadas realizaciones, el tumor sólido se selecciona del grupo que consiste en cáncer colorrectal, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de cerebro, cáncer de cuello uterino, cáncer de vejiga, cáncer de ano, cáncer de útero, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, cáncer de endometrio, cáncer de huesos, cáncer testicular, cáncer de piel, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cáncer de esófago, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de glándulas salivales y mieloma.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra como tratamiento de "primera línea" a un paciente con cáncer, en donde el paciente no ha recibido tratamiento sistémico previo para el cáncer. En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra como tratamiento de "segunda línea" a un paciente con cáncer (por ejemplo, cáncer metastásico), en donde el paciente se ha tratado previamente con una terapia de "tratamiento habitual" que incluye, pero sin limitación, quimioterapia, cirugía y radiación.

En algunas realizaciones, el cáncer comprende el cáncer de piel. En determinadas realizaciones, el cáncer de piel es un cáncer de piel no melanoma que incluye, pero sin limitación, carcinoma espinocelular y carcinoma basocelular. El anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo puede administrarse, como se describe en el presente documento, a un paciente con carcinoma espinocelular metastásico o localmente avanzado. En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra, como se describe en el presente documento, a un paciente con carcinoma basocelular avanzado, en donde el paciente es intolerante a un inhibidor de la vía de Hedgehog (p. ej., vismodegib, sonedegib) o ha sido tratado con un inhibidor de la vía de Hedgehog y muestra enfermedad progresiva.

En determinadas realizaciones, cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende de 0,1 a 20 mg/kg del peso corporal del sujeto. En determinadas realizaciones, cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende 0,3, 1, 3, 5 o 10 mg/kg del peso corporal del sujeto. En determinadas realizaciones, cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende de 20 a 600 mg. En una realización, cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende aproximadamente 200 mg. En una realización, cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende aproximadamente 250 mg. En una realización, cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende aproximadamente 350 mg.

En determinadas realizaciones, la radioterapia se administra en una o más dosis. En determinadas realizaciones, cada dosis de radioterapia comprende de 2 a 100 Gray (Gy). En determinadas realizaciones, la radioterapia es radioterapia hipofraccionada. En determinadas realizaciones, la radioterapia comprende de 2 a 12 fracciones.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 se administra antes de, junto con o después de la radioterapia. En una realización, el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra antes de una dosis de radioterapia.

En determinadas realizaciones, los métodos comprenden administrar de 0 a 50 dosis terapéuticas de cada uno de un anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde cada dosis se administra de 0,5 a 12 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En una realización, cada dosis se administra 1 semana después de la dosis inmediatamente anterior. En una realización, cada dosis se administra 2 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En una realización, cada dosis se administra 3 semanas después de la dosis inmediatamente anterior.

En determinadas realizaciones, la una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo y, opcionalmente, la radioterapia están comprendidas en un ciclo de tratamiento. Los métodos, de acuerdo con este aspecto de la invención, comprenden administrar a un sujeto que lo necesite al menos un ciclo de tratamiento en donde el al menos un ciclo de tratamiento comprende una o más dosis de un anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo. En determinadas realizaciones, se administran hasta 12 ciclos de tratamiento a un sujeto que lo necesite. Al menos un ciclo de tratamiento comprende además una o más dosis de radioterapia. En determinadas realizaciones, la radioterapia se administra en un solo ciclo de tratamiento. En determinadas realizaciones, la radioterapia es radioterapia hipofraccionada. En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra antes de la radioterapia.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo y la radioterapia se administran en combinación con un agente terapéutico o terapia adicional (por ejemplo, ciclofosfamida o cualquier agente o terapia divulgados en el presente documento).

En determinadas realizaciones, el tratamiento produce uno o más efectos terapéuticos seleccionados del grupo que consiste en regresión tumoral, inhibición del efecto abscópico de la metástasis tumoral, reducción de lesiones metastásicas a lo largo del tiempo, uso reducido de agentes quimioterápicos o citotóxicos, reducción de la carga tumoral, aumento de la supervivencia sin progresión, aumento de la supervivencia general, respuesta completa, respuesta parcial y enfermedad estable.

De acuerdo con determinados aspectos, el anticuerpo anti-PD-1 o la proteína de unión a antígeno comprende las regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (HCDR, del inglés "heavy chain complementarity determining regions") de una región variable de cadena pesada (HCVR, del inglés "heavy chain variable region") que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y las CDR de la cadena ligera de una región variable de cadena ligera (LCVR, del inglés "light chain variable region") que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2. Uno de dichos tipos de proteína de unión a antígeno que se puede utilizar en el contexto de la presente invención es un anticuerpo anti-PD-1 tal como REGN2810.

En determinados aspectos, la presente divulgación proporciona el uso de un anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo en la fabricación de un medicamento para tratar o inhibir el crecimiento de un cáncer en un sujeto, que incluye seres humanos. En determinados aspectos, el cáncer es un tumor sólido. En determinados aspectos, el cáncer es cáncer colorrectal, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de cerebro, cáncer de cuello uterino, cáncer de vejiga, cáncer de ano, cáncer de útero, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, cáncer de endometrio, cáncer de huesos, cáncer testicular, cáncer de piel, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cáncer de esófago, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de glándulas salivales o mieloma.

En determinados aspectos, la presente divulgación proporciona el uso de un anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo en la fabricación de un medicamento en combinación con radioterapia para tratar o inhibir el crecimiento de un cáncer en un sujeto, que incluye seres humanos. En determinados aspectos, el cáncer es un tumor sólido. En determinados aspectos, el cáncer es cáncer colorrectal, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de cerebro, cáncer de cuello uterino, cáncer de vejiga, cáncer de ano, cáncer de útero, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, cáncer de endometrio, cáncer de huesos, cáncer testicular, cáncer de piel, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cáncer de esófago, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de glándulas salivales o mieloma.

En un aspecto, en el presente documento, se divulga un kit para tratar a un sujeto que padece un cáncer, comprendiendo el kit: (a) una dosis de un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo que se une de manera específica a PD-1 y lo inhibe; y (b) instrucciones para utilizar el anticuerpo anti-PD-1 para tratar al sujeto de acuerdo con los métodos divulgados en el presente documento. En determinados aspectos, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer colorrectal, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de cerebro, cáncer de cuello uterino, cáncer de vejiga, cáncer de ano, cáncer de útero, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, cáncer de endometrio, cáncer de huesos, cáncer testicular, cáncer de piel, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cáncer de esófago, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de glándulas salivales y mieloma.

Otras realizaciones de la presente invención se harán evidentes a partir de una revisión de la siguiente descripción detallada.

Breve descripción de las figuras

La **figura 1** muestra el diseño del estudio que incluye la dosificación de un anticuerpo anti-PD-1 y la radiación (XRT) en ratones implantados con tumores MC38 (estudio descrito en el ejemplo 1 en el presente documento).

La **figura 2** muestra el crecimiento tumoral promedio en ratones tratados con anticuerpo de control con isotipo (•), anticuerpo anti-PD-1 (■), control con isotipo + radiación (XRT) (▲) o anticuerpo anti-PD-1 + XRT (▼) en el estudio descrito en el ejemplo 1 en el presente documento.

La **figura 3** muestra la supervivencia general de ratones tratados con anticuerpo de control con isotipo (•), anticuerpo anti-PD-1 (■), control con isotipo + radiación (XRT) (▲) o anticuerpo anti-PD-1 + XRT (▼) en el estudio descrito en el ejemplo 1 en el presente documento.

La **figura 4** muestra el diseño del estudio que incluye la dosificación de un anticuerpo anti-PD-1 y la radiación (XRT) en ratones implantados con tumores B16F10.9 (estudio descrito en el ejemplo 2 en el presente documento).

La **figura 5** muestra el crecimiento tumoral promedio en ratones tratados con anticuerpo de control con isotipo (•), anticuerpo anti-PD-1 (■), control con isotipo + radiación (XRT) (◆) o anticuerpo anti-PD-1 + XRT (O) en el estudio descrito en el ejemplo 2 en el presente documento.

La **figura 6** muestra la supervivencia general de ratones tratados con anticuerpo de control con isotipo (•), anticuerpo anti-PD-1 (■), control con isotipo + radiación (XRT) (◆) o anticuerpo anti-PD-1 + XRT (O) en el estudio descrito en el ejemplo 2 en el presente documento.

La **figura 7** muestra el diseño del estudio que incluye la dosificación de un anticuerpo anti-PD-1 y la radiación (XRT) en ratones implantados con tumores MC38 (estudio descrito en el ejemplo 4 en el presente documento)

La **figura 8** muestra un crecimiento tumoral primario promedio en ratones tratados con anticuerpo de control con isotipo (•), anticuerpo anti-PD-1 (■), control con isotipo + radiación (XRT) (▲) o anticuerpo anti-PD-1 + XRT (▼) en el estudio descrito en el ejemplo 4 en el presente documento.

La **figura 9** muestra la supervivencia general de los ratones tratados con anticuerpo de control con isotipo (•), anticuerpo anti-PD-1 (■), control con isotipo + radiación (XRT) (▲) o anticuerpo anti-PD-1 + XRT (▼) en el estudio descrito en el ejemplo 4 en el presente documento.

La **figura 10** muestra un crecimiento tumoral secundario en ratones tratados con anticuerpo de control con isotipo (•), anticuerpo anti-PD-1 (■), control con isotipo + radiación (XRT) (▲) o anticuerpo anti-PD-1 + XRT (▼) en el estudio descrito en el ejemplo 4 en el presente documento.

La **figura 11** muestra el diseño del estudio que incluye la dosificación de un anticuerpo anti-PD-1, un anticuerpo anti-GITR y radiación (XRT) en ratones implantados con tumores MC38 (estudio descrito en el ejemplo 5 en el presente documento).

La **figura 12** muestra el crecimiento tumoral promedio en ratones tratados con anticuerpo de control con isotipo (•), anticuerpo anti-PD-1 (■), anticuerpo anti-GITR (▲), combinación de anticuerpo anti-PD-1 y anticuerpo anti-GITR (▼), control con isotipo + radiación (XRT) (◆), anticuerpo anti-PD-1 + XRT (○), anticuerpo anti-GITR + XRT (□) o una combinación de anticuerpo anti-PD-1, anticuerpo anti-GITR + XRT (△) en el estudio descrito en el ejemplo 5 en el presente documento.

La **figura 13** muestra la supervivencia general de ratones tratados con anticuerpo de control con isotipo (•), anticuerpo anti-PD-1 (■), anticuerpo anti-GITR (▲), combinación de anticuerpo anti-PD-1 y anticuerpo anti-GITR (▼), control con isotipo + radiación (XRT) (◆), anticuerpo anti-PD-1 + XRT (○), anticuerpo anti-GITR + XRT (□) o una combinación de anticuerpo anti-PD-1, anticuerpo anti-GITR + XRT (△) en el estudio descrito en el ejemplo 5 en el presente documento.

La **figura 14A** muestra una imagen radiográfica de metástasis pulmonares en un paciente con carcinoma basocelular (BCC) indicada mediante flechas en la situación inicial, a la izquierda, y en la semana 24, a la derecha.

La **figura 14B** muestra una imagen radiográfica de la masa del cuello en un paciente con carcinoma espinocelular (CSCC) en la situación inicial, a la izquierda, y en la semana 16, a la derecha.

Descripción detallada

Antes de describir la presente invención, debe entenderse que la presente invención no se limita a métodos ni condiciones experimentales particulares descritos, ya que dichos métodos y condiciones pueden variar. También debe entenderse que la terminología usada en el presente documento únicamente tiene el fin de describir realizaciones particulares, y no se pretende que sea limitante, puesto que el alcance de la presente invención estará limitado únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el entendido comúnmente por un experto en la materia a la cual pertenece la presente invención. Como se utiliza en el presente documento, el término "aproximadamente", cuando se usa en referencia a un valor numérico indicado particular, significa que el valor puede variar con respecto al valor indicado en no más de un 1 %. Por ejemplo, como se utiliza en el presente documento, la expresión "aproximadamente 100" incluye 99 y 101 y todos los valores intermedios (por ejemplo, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, etc.).

Aunque se puede usar cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento en la práctica de la presente invención, a continuación, se describen los métodos y materiales preferidos.

Métodos para tratar o inhibir el crecimiento de un cáncer

La presente invención se refiere a métodos para tratar, mejorar o reducir la intensidad de al menos un síntoma o indicio, o inhibir el crecimiento de un cáncer en un sujeto. Los métodos comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une de manera específica a PD-1. El anticuerpo anti-PD-1 se administra en combinación con radioterapia. En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 se administra en combinación con una terapia antitumoral adicional (descrita en otra parte del presente documento). Como se utiliza en el presente documento, los términos "tratar", "tratando", o similares, significan aliviar síntomas, eliminar la causa de los síntomas de forma temporal o permanente, retrasar o inhibir el crecimiento tumoral, reducir la carga de células tumorales o la carga tumoral, promover la regresión tumoral, provocar la contracción, necrosis y/o desaparición del tumor, prevenir la recidiva del tumor, prevenir o inhibir la metástasis, inhibir el crecimiento de tumores metastásicos y/o aumentar la duración de la supervivencia del sujeto.

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "un sujeto que lo necesite" significa un ser humano o mamífero no humano que presenta uno o más síntomas o indicios de cáncer, y/o que ha sido diagnosticado con cáncer, incluido un tumor sólido y que necesita tratamiento para el mismo. En muchas realizaciones, el término "sujeto" puede utilizarse indistintamente con el término "paciente". Por ejemplo, un sujeto humano se puede diagnosticar con un tumor primario o metastásico y/o con uno o más síntomas o indicios que incluyen, pero sin limitación, pérdida de peso inexplicable,

debilidad general, cansancio persistente, pérdida de apetito, fiebre, sudores nocturnos, dolor de huesos, disnea, abdomen hinchado, dolor/presión en el pecho, agrandamiento del bazo y elevación del nivel de un biomarcador relacionado con el cáncer (por ejemplo, CA125). La expresión incluye sujetos con tumores primarios o establecidos. En realizaciones específicas, la expresión incluye sujetos humanos que tienen y/o necesitan tratamiento para un tumor sólido, por ejemplo, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de piel, cáncer de hígado, cáncer de huesos, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer de páncreas, cáncer de cabeza y cuello y cáncer de cerebro. El término incluye sujetos con tumores primarios o metastásicos (neoplasias malignas avanzadas). En determinadas realizaciones, la expresión "un sujeto que lo necesite" incluye pacientes con un tumor sólido que es resistente o refractario o no está controlado de manera adecuada mediante terapia previa (por ejemplo, tratamiento con un agente antineoplásico). Por ejemplo, la expresión incluye sujetos que se han tratado con una o más líneas de terapia previa tales como el tratamiento con quimioterapia (por ejemplo, carboplatino o docetaxel). En determinadas realizaciones, la expresión "un sujeto que lo necesite" incluye pacientes con un tumor sólido que se ha tratado con una o más líneas de terapia previa pero que posteriormente ha recaído o hecho metástasis. Por ejemplo, los pacientes con un tumor sólido que pueden haber recibido tratamiento con uno o más agentes antineoplásicos que conducen a la regresión del tumor; sin embargo, posteriormente han recaído con cáncer resistente a uno o más agente antineoplásicos (por ejemplo, cáncer resistente a quimioterapia) se tratan con los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la presente divulgación. La expresión también incluye sujetos con un tumor sólido para los que no se aconseja la terapia antineoplásica convencional, por ejemplo, debido a los efectos secundarios tóxicos. Por ejemplo, la expresión incluye pacientes que han recibido uno o más ciclos de quimioterapia con efectos secundarios tóxicos.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en la presente invención pueden utilizarse para tratar pacientes que muestran niveles elevados de uno o más biomarcadores asociados con el cáncer [por ejemplo, el ligando de muerte programada 1 (PD-L1, CA125, CA19-9, antígeno prostático específico (PSA), lactato deshidrogenasa, KIT, antígeno carcinoembrionario, receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), reordenamiento del gen ALK]. Por ejemplo, los métodos comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia a un paciente con un nivel elevado de PD-L1 y/o EGFR. En una realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en la presente invención se puede utilizar en pacientes con cáncer que se seleccionan basándose en la expresión del PD-L1 en el tejido canceroso. En determinadas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en la presente invención se puede utilizar para tratar pacientes con un cáncer en donde los pacientes se seleccionan basándose en al menos un 1 %, al menos un 2 %, al menos un 5 %, al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 % o al menos un 50 % de la expresión del PD-L1 en el tejido canceroso y/o células inmunitarias. Los métodos para determinar la expresión del PD-L1 en el tejido canceroso y/o células inmunitarias son bien conocidos en la materia. En determinadas realizaciones, la expresión del PD-L1 en el tejido tumoral se determina mediante cualquier ensayo conocido en la materia, por ejemplo, mediante un ensayo ELISA o mediante un ensayo de inmunohistoquímica (IHC), como se describe en las publicaciones PCT WO2016124558 o WO2016191751 o la publicación de solicitud de patente de EE. UU. US20160305947. En determinadas realizaciones, la expresión del PD-L1 se determina mediante la cuantificación de la expresión del ARN, por ejemplo, mediante hibridación *in situ* o mediante RT-PCR. En determinadas realizaciones, la expresión del PD-L1 se determina mediante imágenes con un anticuerpo anti-PD-L1 marcado, por ejemplo, mediante tomografía por emisión de inmunopositrones o iPET [Véanse, por ejemplo, The Oncologist, 12: 1379 (2007); Journal of Nuclear Medicine, 52(8): 1171 (2011); y la solicitud de patente provisional de EE. UU.: 62/428.672, presentada el 1 de diciembre de 2016].

En determinadas realizaciones, la presente invención se utiliza en un sujeto con un tumor sólido. Los términos "tumor", "cáncer" y "neoplasia maligna" se utilizan de manera indistinta en el presente documento.

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "tumor sólido" se refiere a una masa de tejido anómala que habitualmente no contiene quistes o áreas líquidas. Los tumores sólidos pueden ser benignos (no cancerosos) o malignos (cancerosos). Para los fines de la presente invención, la expresión "tumor sólido" significa tumores sólidos malignos. La expresión incluye diferentes tipos de tumores sólidos nombrados por los tipos de células que los forman, a saber, sarcomas, carcinomas y linfomas. Sin embargo, la expresión no incluye leucemias. En diversas realizaciones, la expresión "tumor sólido" incluye cánceres que surgen de tejido conjuntivo o de soporte (por ejemplo, hueso o músculo) (denominados sarcomas), cánceres que surgen de las células glandulares del cuerpo y las células epiteliales que recubren los tejidos corporales (denominados carcinomas), y cánceres de los órganos linfoides tales como los ganglios linfáticos, bazo y timo (denominados linfomas). Las células linfoides se encuentran en casi todos los tejidos del cuerpo y, por lo tanto, los linfomas pueden desarrollarse en una amplia variedad de órganos. En determinadas realizaciones, la expresión "tumor sólido" incluye cánceres que incluyen, pero sin limitación, cáncer colorrectal, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de cerebro, cáncer de cuello uterino, cáncer de vejiga, cáncer de ano, cáncer de útero, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, cáncer de endometrio, cáncer de huesos, cáncer testicular, cáncer de piel, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cáncer de esófago, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de glándulas salivales y mieloma. En determinadas realizaciones, la expresión "tumor sólido" incluye cánceres que incluyen, pero sin limitación, carcinoma hepatocelular, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer epidermoide de cabeza y cuello, carcinoma basocelular, carcinoma de mama, carcinoma espinocelular, condrosarcoma, angiosarcoma, colangiocarcinoma, sarcoma de tejidos blandos, cáncer colorrectal,

melanoma, carcinoma de células de Merkel y glioblastoma multiforme. En determinadas realizaciones, la expresión "tumor sólido" comprende más de una lesión tumoral sólida localizadas separadas entre sí, por ejemplo, 2, más de 2, más de 5, más de 10, más de 15, más de 20 o más de 25 lesiones en un sujeto que necesita tratamiento. En determinadas realizaciones, las más de una lesión se encuentran distalmente entre sí en el mismo órgano. En otras determinadas realizaciones, las lesiones tumorales pueden estar ubicadas en diferentes órganos.

En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en métodos para tratar o inhibir el crecimiento de un cáncer que incluye, pero sin limitación, cáncer colorrectal, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de cerebro, cáncer de cuello uterino, cáncer de vejiga, cáncer de ano, cáncer de útero, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, cáncer de endometrio, cáncer de huesos, cáncer testicular, cáncer de piel, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cáncer de esófago, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de glándulas salivales y mieloma. En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en métodos para tratar o inhibir el crecimiento de un cáncer que incluye, pero sin limitación, carcinoma hepatocelular, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer epidermoide de cabeza y cuello, carcinoma basocelular, carcinoma espinocelular, condrosarcoma, angiosarcoma, colangiocarcinoma, sarcoma de tejidos blandos, cáncer colorrectal, melanoma, carcinoma de células de Merkel y glioblastoma multiforme. En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en métodos para tratar tumores sólidos avanzados que incluyen, pero sin limitación, carcinoma espinocelular (CSCC), CSCC localmente avanzado irresecable, cáncer colorrectal metastásico, cáncer hepatocelular avanzado o metastásico, cáncer de pulmón no microcítico avanzado, carcinoma basocelular, glioblastoma multiforme recurrente, cáncer de próstata recurrente castrado y cualquier tumor sólido avanzado resistente a la terapia de primera línea. Los métodos, de acuerdo con este aspecto, comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1. En la invención, los métodos comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con una terapia antitumoral. La terapia antitumoral comprende radioterapia. Otras terapias antitumorales incluyen, pero sin limitación, terapias antitumorales convencionales tales como la quimioterapia y cirugía. Otras terapias antitumorales se describen en otra parte del presente documento. En determinadas realizaciones, se administran una o más dosis de un anticuerpo anti-PD-1 a un sujeto que lo necesita, en donde cada dosis se administra 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En determinadas realizaciones, cada dosis comprende de 0,1 a 10 mg/kg (por ejemplo, 0,3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg o 10 mg/kg) del peso corporal del sujeto. En otras realizaciones determinadas, cada dosis comprende de 20 a 600 mg del anticuerpo anti-PD-1, por ejemplo, 50 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 400 mg o 500 mg del anticuerpo anti-PD-1.

En determinadas realizaciones, la presente invención incluye tratar un cáncer o inhibir el crecimiento de un cáncer con inestabilidad de microsatélites (MSI, del inglés "microsatellite instability"). Como se utiliza en el presente documento, el término "inestabilidad de microsatélites", también conocido como "MSI" se refiere a los cambios en las repeticiones de microsatélites en las células tumorales o la hipermutabilidad genética provocada debido a la reparación deficiente de emparejamientos incorrectos del ADN. Los microsatélites, también conocidos como repeticiones de secuencia simple, son secuencias repetidas de ADN que comprenden unidades repetidas de 1 a 6 pares de bases de longitud. Aunque la longitud de los microsatélites varía mucho de una persona a otra y contribuye a la huella del ADN, cada individuo tiene microsatélites de una longitud determinada. La MSI es el resultado de la incapacidad de las proteínas de reparación de emparejamientos incorrectos (MMR, del inglés "mismatch repair") para corregir un error de replicación del ADN. La MSI comprende polimorfismos de ADN, en donde los errores de replicación varían en longitud en lugar de secuencia. La MSI comprende mutaciones de cambio de marco, ya sea a través de inserciones o eliminaciones, o hipermetilación, que conduce al silenciamiento de genes. Se sabe en la materia que la inestabilidad de microsatélites puede dar como resultado cáncer de colon, cáncer gástrico, cáncer de endometrio, cáncer de ovario, cáncer del tracto hepatobiliar, cáncer del tracto urinario, cáncer de cerebro y cáncer de piel. La presente invención incluye tratar cánceres con MSI, comprendiendo el método administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia.

Una realización de la invención se refiere a un anticuerpo anti-PD-1 (por ejemplo, REGN2810) para su uso en el tratamiento de tumores sólidos avanzados con MSI que incluye, pero sin limitación, cáncer colorrectal metastásico con MSI, cáncer de endometrio metastásico con MSI y cáncer de próstata recurrente castrado con MSI. En determinadas realizaciones, se administran una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1 a un sujeto con un tumor sólido avanzado con MSI, en donde cada dosis comprende de 0,1 a 20 mg/kg del peso corporal del sujeto y en donde cada dosis se administra de 0,5 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En determinadas realizaciones, se administran una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1 a un sujeto con un tumor sólido avanzado con MSI, en donde cada dosis comprende de 20 a 600 mg del anticuerpo anti-PD-1 y en donde cada dosis se administra de 0,5 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior.

Como se utiliza en el presente documento, el término "radioterapia", también conocido como "XRT" significa el uso de radiación ionizante para destruir células cancerosas, generalmente como parte de la terapia contra el cáncer. Los rayos X, los rayos gamma o las partículas cargadas (por ejemplo, protones o electrones) se utilizan para generar radiación ionizante. La radioterapia puede administrarse mediante una máquina colocada fuera del cuerpo del paciente (radioterapia de haz externo) o mediante una fuente colocada dentro del cuerpo del paciente (radioterapia interna o braquiterapia) o mediante radioisótopos sistémicos administrados por vía intravenosa u oral (terapia sistémica con

radioisótopos). La radioterapia se puede planificar y administrar junto con técnicas basadas en imágenes tales como la tomografía computarizada (TC), imágenes por resonancia magnética (MRI, del inglés "magnetic resonance imaging") para determinar con precisión la dosis y la ubicación de la radiación que se administrará. En diversas realizaciones, la radioterapia se selecciona del grupo que consiste en radioterapia total para todo el cuerpo, radioterapia de haz externo convencional, radiocirugía estereotáctica, radioterapia corporal estereotáctica, radioterapia conformada 3-D, radioterapia modulada por intensidad, radioterapia guiada por imágenes, tomoterapia, braquiterapia y radioterapia sistémica. Dependiendo de la intención, en determinadas realizaciones, la radioterapia es curativa, adyuvante o paliativa. En realizaciones específicas, el término "radioterapia" se refiere a radioterapia hipofraccionada. La radioterapia hipofraccionada se refiere a la radioterapia en la que una dosis de radiación se compone de 2 o más fracciones. En diversas realizaciones, cada fracción comprende de 2 a 20 Gy. Por ejemplo, una dosis de radiación de 50 Gy se puede dividir en 10 fracciones, comprendiendo cada una 5 Gy. En determinadas realizaciones, las 2 o más fracciones se administran en días consecutivos o secuenciales. En otras realizaciones determinadas, las 2 o más fracciones se administran una vez cada 2 días, una vez cada 3 días, una vez cada 4 días, una vez cada 5 días, una vez cada 6 días, una vez cada 7 días o en una combinación de los mismos.

De acuerdo con determinadas realizaciones, la presente invención incluye tratar, retrasar o inhibir el crecimiento de un tumor. En determinadas realizaciones, la presente invención incluye promover la regresión tumoral. En determinadas realizaciones, la presente invención incluye reducir la carga de células tumorales o reducir la carga tumoral. En determinadas realizaciones, la presente invención incluye evitar la recidiva del tumor. Los métodos pueden comprender administrar de manera secuencial una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 como se define en las reivindicaciones en combinación con radioterapia a un sujeto que lo necesita, en donde el anticuerpo se administra al sujeto en múltiples dosis, por ejemplo, como parte de una pauta posológica terapéutica específica. Por ejemplo, la pauta posológica terapéutica puede comprender administrar una o más dosis de un anticuerpo anti-PD-1 al sujeto con una frecuencia de aproximadamente una vez al día, una vez cada dos días, una vez cada tres días, una vez cada cuatro días, una vez cada cinco días, una vez cada seis días, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas, una vez al mes, una vez cada dos meses, una vez cada tres meses, una vez cada cuatro meses o con menos frecuencia. En determinadas realizaciones, la una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administran en combinación con una o más dosis de radioterapia, en donde una o más dosis de radiación se administran al sujeto con una frecuencia de aproximadamente una vez al día, una vez cada dos días, una vez cada tres días, una vez cada cuatro días, una vez cada cinco días, una vez cada seis días, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas, una vez al mes, una vez cada dos meses, una vez cada tres meses, una vez cada cuatro meses o con menos frecuencia.

En determinadas realizaciones, la una o más dosis están comprendidas en un ciclo de tratamiento. Los métodos, de acuerdo con este aspecto, comprenden administrar a un sujeto que lo necesita al menos un ciclo de tratamiento, en donde el al menos un ciclo de tratamiento comprende de 1 a 10 dosis de un anticuerpo anti-PD-1 y una o más dosis de radioterapia. En determinadas realizaciones, se administran de 2 a 12 ciclos de tratamiento a un sujeto que lo necesita.

En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en métodos para aumentar la eficacia antitumoral o aumentar la inhibición tumoral. Los métodos, de acuerdo con este aspecto de la invención, comprenden administrar a un sujeto con un tumor sólido una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 antes de administrar una dosis de radiación, en donde el anticuerpo anti-PD-1 se puede administrar aproximadamente 1 día, más de 1 día, más de 2 días, más de 3 días, más de 4 días, más de 5 días, más de 6 días, más de 7 días o más de 8 días antes de la radioterapia. En determinadas realizaciones, los métodos proporcionan una mayor inhibición tumoral, por ejemplo, en aproximadamente un 20 %, más del 20 %, más del 30 %, más del 40 %, más del 50 %, más del 60 %, más del 70 % o más del 80 % en comparación con un sujeto al que se le administró una dosis de radiación antes del anticuerpo anti-PD-1. En determinadas realizaciones, la radioterapia comprende radioterapia hipofraccionada.

En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en métodos de tratamiento del cáncer, comprendiendo los métodos seleccionar un sujeto con una primera lesión tumoral y al menos una segunda lesión tumoral y administrar una o más dosis de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia de modo que se traten ambas lesiones. En la invención, los métodos comprenden administrar radioterapia a la primera lesión tumoral pero no a la segunda lesión tumoral en donde la administración conduce a la regresión tumoral en ambas lesiones tumorales (efecto abscóptico). En determinadas realizaciones, los métodos comprenden seleccionar un sujeto con una primera lesión tumoral y al menos una segunda lesión tumoral y administrar una o más dosis de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia hipofraccionada en donde la radioterapia hipofraccionada se administra a la primera lesión, pero no la segunda lesión y en donde ambas lesiones se tratan tras dicha administración. En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 se administra antes de la radioterapia.

En determinados aspectos, la presente divulgación incluye métodos para tratar un cáncer, comprendiendo los métodos administrar a un sujeto que lo necesita una o más dosis subterapéuticas de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con una o más terapias antitumorales, por ejemplo, radioterapia. Como se define en otra parte del presente documento, la expresión "dosis subterapéutica" se refiere a una dosis inferior a una dosis terapéutica y puede utilizarse para reducir

la toxicidad de la terapia administrada. En determinados aspectos, la administración de una dosis subterapéutica de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia da como resultado una eficacia terapéutica antitumoral en comparación con la administración de la dosis subterapéutica del anticuerpo anti-PD-1 solo. En otras determinadas realizaciones, los métodos comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con una dosis subterapéutica de radiación. En algunos aspectos de la divulgación, se puede administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con una dosis subterapéutica de ciclofosfamida, para una mayor eficacia en comparación con cualquier monoterapia.

En determinadas realizaciones, la presente invención incluye inhibir, retardar o detener la metástasis tumoral o la infiltración tumoral en órganos periféricos. Los métodos, de acuerdo con este aspecto, comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 a un sujeto que lo necesita en combinación con radiación. En una realización, la radiación es radiación hipofraccionada. En una realización, la radiación se administra después de administrar una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1.

En determinadas realizaciones, los métodos de la presente invención comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-PD-1 a un sujeto con tumores sólidos avanzados. En realizaciones específicas, el tumor sólido avanzado es cáncer de pulmón metastásico, cáncer de cabeza y cuello, cáncer hepatocelular o cáncer de mama. En otras determinadas realizaciones, el tumor sólido avanzado es el cáncer espinocelular. En determinadas realizaciones, el tumor sólido avanzado es de escasa malignidad o de gran malignidad.

En determinadas realizaciones, el sujeto no responde a la terapia anterior o ha recaído después de la terapia anterior (por ejemplo, con carboplatino). En determinadas realizaciones, el sujeto tiene un tumor sólido avanzado que es resistente a la quimioterapia de primera línea. En la invención, los métodos comprenden además administrar radiación y opcionalmente ciclofosfamida a un sujeto con un tumor sólido avanzado.

En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en métodos para tratar o inhibir el crecimiento de un cáncer que incluye, pero sin limitación, cáncer colorrectal, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de cerebro, cáncer de cuello uterino, cáncer de vejiga, cáncer de ano, cáncer de útero, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, cáncer de endometrio, cáncer de huesos, cáncer testicular, cáncer de piel, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cáncer de esófago, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de glándulas salivales y mieloma. En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en métodos para tratar o inhibir el crecimiento de un cáncer que incluye, pero sin limitación, carcinoma hepatocelular, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer epidermoide de cabeza y cuello, carcinoma basocelular, carcinoma espinocelular, condrosarcoma, angiosarcoma, colangiocarcinoma, sarcoma de tejidos blandos, cáncer colorrectal, melanoma, carcinoma de células de Merkel y glioblastoma multiforme. En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en métodos para tratar tumores sólidos avanzados que incluyen, pero sin limitación, carcinoma espinocelular (CSCC), CSCC localmente avanzado irresecable, cáncer colorrectal metastásico, cáncer hepatocelular avanzado o metastásico, cáncer de pulmón no microcítico avanzado, glioblastoma multiforme recurrente, glioblastoma multiforme recién diagnosticado, cáncer de próstata recurrente castrado y cualquier tumor sólido avanzado resistente a la terapia de primera línea.

De acuerdo con un aspecto, la presente divulgación incluye métodos para tratar o inhibir el crecimiento de un tumor, comprendiendo los métodos: (a) seleccionar un paciente con carcinoma espinocelular (CSCC) en donde el paciente se selecciona en función de un atributo seleccionado del grupo que consiste en: (i) el paciente tiene CSCC localmente avanzado; (ii) el paciente tiene CSCC metastásico; (iii) el tumor es irresecable; (iv) el paciente ha sido tratado anteriormente con al menos una terapia antitumoral; (v) el paciente tiene una enfermedad que se considera inoperable; (vi) la cirugía y/o la radiación están contraindicadas; (vii) el paciente ha sido tratado anteriormente con radiación y el tumor es resistente o no responde a la radiación; (viii) el paciente tiene CSCC localmente avanzado y no es susceptible de cirugía curativa; (ix) el tumor comprende daño en el ADN inducido por UV; y (x) el paciente muestra $\geq 1\%$, $\geq 5\%$ o $\geq 10\%$ de la expresión del PD-L1 en las células tumorales; y (b) administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 al paciente que lo necesita. En determinados aspectos, una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administran de 1 a 12 semanas después de la dosis inmediatamente anterior, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En determinados aspectos, cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 comprende 0,1, 1, 0,3, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mg/kg del peso corporal del paciente. En determinados aspectos, cada dosis comprende de 50 a 500 mg del anticuerpo anti-PD-1, por ejemplo 200 mg, 250 mg o 350 mg del anticuerpo anti-PD-1, en donde cada dosis se administra 0,5, 1, 2, 3 o 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En un aspecto, el anticuerpo anti-PD-1 es REGN2810.

De acuerdo con un aspecto, la presente divulgación incluye métodos para tratar o inhibir el crecimiento de un tumor, comprendiendo los métodos: (a) seleccionar un paciente con carcinoma basocelular (BCC) en donde el paciente se selecciona en función de un atributo seleccionado del grupo que consiste en: (i) el paciente tiene BCC localmente avanzado; (ii) el paciente tiene BCC metastásico; (iii) el tumor es irresecable; (iv) el paciente ha sido tratado anteriormente con al menos una terapia antitumoral; (v) el paciente ha sido tratado antes y progresó tras el tratamiento con un inhibidor de la vía de Hedgehog (por ejemplo, vismodegib, sonedegib); (vi) el paciente es intolerante a un inhibidor de la vía de Hedgehog; (vii) el paciente tiene una enfermedad que se considera inoperable o no es susceptible

de cirugía curativa; (viii) la cirugía y/o la radiación están contraindicadas; (ix) el paciente ha sido tratado anteriormente con radiación y el tumor es resistente o no responde a la radiación; (viii) el paciente muestra ≥ 1 %, ≥ 5 % o ≥ 10 % de la expresión del PD-L1 en las células tumorales; y (ix) el tumor comprende daño en el ADN inducido por UV; y (b) administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 al paciente que lo necesita. En determinados aspectos, una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administran de 1 a 12 semanas después de la dosis inmediatamente anterior, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En determinados aspectos, cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 comprende 0,1, 1, 0,3, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mg/kg del peso corporal del paciente. En determinados aspectos, cada dosis comprende de 50 a 500 mg del anticuerpo anti-PD-1, por ejemplo 200 mg, 250 mg o 350 mg del anticuerpo anti-PD-1, en donde cada dosis se administra 0,5, 1, 2, 3 o 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En un aspecto, el anticuerpo anti-PD-1 es REGN2810.

En determinados aspectos, cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra 1 semana, 2 semanas, 3 semanas o 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior, en donde cada dosis comprende de 50 a 600 mg del anticuerpo anti-PD-1. En una realización, cada dosis comprende 200, 250, 300 o 350 mg del anticuerpo anti-PD-1.

Un aspecto de la divulgación se refiere a un anticuerpo anti-PD-1 (por ejemplo, REGN2810) para su uso en el tratamiento del colangiocarcinoma. En determinados aspectos, se administran una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1 a un sujeto con colangiocarcinoma, en donde cada dosis comprende de 0,1 a 20 mg/kg del peso corporal del sujeto y en donde cada dosis se administra de 0,5 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En determinados aspectos, cada dosis comprende de 50 a 500 mg del anticuerpo anti-PD-1, por ejemplo 200 mg, 250 mg o 350 mg del anticuerpo anti-PD-1, en donde cada dosis se administra 0,5, 1, 2, 3 o 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior.

Un aspecto de la divulgación se refiere a un anticuerpo anti-PD-1 (por ejemplo, REGN2810) para su uso en el tratamiento del cáncer hepatocelular avanzado (HCC, del inglés "hepatocellular cancer"). En determinados aspectos, se administran una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1 a un sujeto con HCC, en donde cada dosis comprende de 0,1 a 20 mg/kg del peso corporal del sujeto y en donde cada dosis se administra de 0,5 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En determinados aspectos, cada dosis comprende de 50 a 500 mg del anticuerpo anti-PD-1, por ejemplo 200 mg, 250 mg o 350 mg del anticuerpo anti-PD-1, en donde cada dosis se administra 0,5, 1, 2, 3 o 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior.

Un aspecto de la divulgación se refiere a un anticuerpo anti-PD-1 (por ejemplo, REGN2810) para su uso en el tratamiento del sarcoma de tejidos blandos. En determinados aspectos, se administran una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1 a un sujeto con sarcoma de tejidos blandos, en donde cada dosis comprende de 0,1 a 20 mg/kg del peso corporal del sujeto y en donde cada dosis se administra de 0,5 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En determinados aspectos, cada dosis comprende de 50 a 500 mg del anticuerpo anti-PD-1, por ejemplo 200 mg, 250 mg o 350 mg del anticuerpo anti-PD-1, en donde cada dosis se administra 0,5, 1, 2, 3 o 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior.

Un aspecto de la divulgación se refiere a un anticuerpo anti-PD-1 (por ejemplo, REGN2810) para su uso en el tratamiento del cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC). En determinados aspectos, se administran una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1 a un sujeto con NSCLC, en donde cada dosis comprende de 0,1 a 20 mg/kg del peso corporal del sujeto y en donde cada dosis se administra de 0,5 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En determinados aspectos, se administran una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1 a un sujeto con NSCLC, en donde cada dosis comprende de 50 a 600 mg del anticuerpo anti-PD-1 y en donde cada dosis se administra de 0,5 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior.

De acuerdo con un aspecto, la presente invención se refiere a métodos para tratar o inhibir el crecimiento de un tumor, comprendiendo los métodos seleccionar un sujeto con cáncer de cerebro y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo al sujeto que lo necesita. En determinadas realizaciones, el cáncer de cerebro es el glioblastoma multiforme. En una realización, el sujeto tiene un glioblastoma multiforme recién diagnosticado. En una realización, el sujeto es ≥ 65 años. En una realización, el anticuerpo anti-PD-1 se administra como una o más dosis, en donde cada dosis se administra de 0,5 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En una realización, cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 comprende 1, 3 o 10 mg/kg del peso corporal del sujeto. En la invención, el anticuerpo anti-PD-1 se administra en combinación con radioterapia. En una realización, la radioterapia es radioterapia hipofraccionada. En un aspecto, al sujeto se le administran de 20 a 60 Gy en 2 a 20 fracciones. En determinadas realizaciones, la una o más dosis de anticuerpo anti-PD-1 están comprendidas en uno o más ciclos de tratamiento, en donde cada ciclo de tratamiento comprende de 1 a 6 dosis del anticuerpo anti-PD-1. En una realización, al menos un ciclo de tratamiento comprende además radioterapia. En una realización adicional, la radioterapia es radioterapia hipofraccionada. En determinadas realizaciones, al sujeto se le administra radioterapia hipofraccionada en el primer ciclo de tratamiento, en donde la radioterapia hipofraccionada comprende de 20 a 60 Gy en 2 a 20 fracciones. En una realización, al sujeto se le administra radioterapia hipofraccionada una semana después de la administración del anticuerpo anti-PD-1 en el primer ciclo de tratamiento. En determinadas realizaciones, los métodos comprenden además administrar un agente antiangiogénico al sujeto si el sujeto desarrolla edema intracraneal después de la administración del anticuerpo anti-PD-1. En una

realización, el agente antiangiogénico es un inhibidor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF, del inglés "vascular endothelial growth factor"). En una realización, el agente antiangiogénico es un inhibidor de la angiopoyetina 2 (Ang-2) (por ejemplo, un anticuerpo anti-Ang-2 tal como nesvacumab). En determinadas realizaciones, el inhibidor del VEGF se selecciona del grupo que consiste en una proteína de fusión inhibidora de VEGF (por ejemplo, una "trampa de VEGF" tal como aflibercept u otra proteína de fusión inhibidora de VEGF como se establece en el documento US 7.087.411), un anticuerpo anti-VEGF (por ejemplo, bevacizumab) y un inhibidor de cinasa de molécula pequeña del receptor de VEGF (por ejemplo, sunitinib, sorafenib o pazopanib).

En determinadas realizaciones, los métodos de la presente invención comprenden administrar un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia a un sujeto que lo necesita como tratamiento de "primera línea" (por ejemplo, tratamiento inicial). En otras realizaciones, se administra un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia como tratamiento de "segunda línea" (por ejemplo, después de una terapia previa). Por ejemplo, se administra un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia como tratamiento de "segunda línea" a un sujeto que ha recaído después de una terapia previa con, por ejemplo, quimioterapia.

Los métodos, de acuerdo con determinadas realizaciones, comprenden administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 y radiación en combinación con un agente terapéutico o régimen o procedimiento terapéutico adicional. El agente terapéutico o régimen o procedimiento terapéutico adicional puede administrarse para aumentar la eficacia antitumoral, para reducir los efectos tóxicos de una o más terapias y/o reducir la dosis de una o más terapias. En diversas realizaciones, el agente terapéutico o régimen o procedimiento terapéutico adicional se selecciona del grupo que consiste en, por ejemplo, quimioterapia, ciclofosfamida, cirugía, una vacuna contra el cáncer, un inhibidor del ligando de muerte programada 1 (PD-L1) (por ejemplo, un anticuerpo anti-PD-L1), un inhibidor del gen de activación de linfocitos 3 (LAG3) (por ejemplo, un anticuerpo anti-LAG3), un inhibidor de la proteína 4 citotóxica asociada a linfocitos T (CTLA-4) (por ejemplo, ipilimumab), un inhibidor del receptor del factor de necrosis tumoral inducido por glucocorticoides (GITR) (por ejemplo, un anticuerpo anti-GITR), un inhibidor de la inmunoglobulina de linfocitos T y que contiene mucina 3 (TIM3), un inhibidor del atenuador de linfocitos B y T (BTLA), un inhibidor del inmunorreceptor de linfocitos T con dominios Ig e ITIM (TIGIT), un inhibidor de CD47, un inhibidor de la indolamina-2,3-dioxigenasa (IDO), un antagonista del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), un inhibidor de la angiopoyetina-2 (Ang2), un inhibidor del factor de crecimiento transformante β (TGF β), un inhibidor del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), un anticuerpo contra un antígeno específico de tumores (por ejemplo, CA9, CA125, antígeno 3 asociado a melanoma (MAGE3), antígeno carcinoembrionario (CEA), vimentina, tumor-M2-PK, antígeno específico de la próstata (AEP), mucina-1, MART-1 y CA19-9], un anticuerpo biespecífico anti-CD3/anti-CD20, una vacuna (por ejemplo, bacilo de Calmette-Guerin), factor estimulador de colonia de granulocitos y macrófagos, una citotoxina, un agente quimioterápico, un inhibidor de la IL-6R, un inhibidor de la IL-4R, un inhibidor de la IL-10, una citocina tal como IL-2, IL-7, IL-21 e IL-15, un fármaco antiinflamatorio tal como corticosteroides, y los fármacos antiinflamatorios no esteroides, y un suplemento dietético tal como los antioxidantes. En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 puede administrarse en combinación con terapia que incluye un agente antineoplásico y cirugía. Como se utiliza en el presente documento, la expresión "en combinación con" significa que el anticuerpo anti-PD-1 se administra al sujeto al mismo tiempo, justo antes o justo después de la administración de la radioterapia y el agente terapéutico adicional. En determinadas realizaciones, el agente terapéutico adicional se administra como una formulación conjunta con el anticuerpo anti-PD-1.

Una realización de la invención se refiere a una combinación de un anticuerpo anti-PD-1 (por ejemplo, REGN2810), radioterapia, ciclofosfamida y GM-CSF para su uso en el tratamiento del carcinoma epidermoide de cabeza y cuello (HNSCC). En determinadas realizaciones, se administran una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1 a un sujeto con HNSCC, en donde cada dosis comprende de 0,1 a 20 mg/kg del peso corporal del sujeto y en donde cada dosis se administra de 0,5 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En determinadas realizaciones, cada dosis comprende de 50 a 500 mg del anticuerpo anti-PD-1, por ejemplo 200 mg, 250 mg o 350 mg del anticuerpo anti-PD-1, en donde cada dosis se administra 0,5, 1, 2, 3 o 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior.

Una realización de la invención se refiere a una combinación de un anticuerpo anti-PD-1 (por ejemplo, REGN2810), radioterapia y ciclofosfamida para su uso en el tratamiento del cáncer de mama. En determinadas realizaciones, se administran una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1 a un sujeto con cáncer de mama, en donde cada dosis comprende de 0,1 a 20 mg/kg del peso corporal del sujeto y en donde cada dosis se administra de 0,5 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior.

Una realización de la invención se refiere a una combinación de un anticuerpo anti-PD-1 (por ejemplo, REGN2810), radioterapia, ciclofosfamida y GM-CSF para su uso en el tratamiento de tumores sólidos avanzados en pacientes que se han tratado previamente con un anticuerpo anti-PD-1 o un anticuerpo anti-PD-L1. En determinadas realizaciones, se administran una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1 a un paciente que lo necesita, en donde cada dosis comprende de 0,1 a 20 mg/kg del peso corporal del sujeto y en donde cada dosis se administra de 0,5 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior.

Un aspecto de la divulgación se refiere a una combinación de un anticuerpo anti-PD-1 (por ejemplo, REGN2810), docetaxel y, opcionalmente, carboplatino para su uso en el tratamiento de tumores sólidos avanzados que son resistentes a la quimioterapia de primera línea. En determinados aspectos, el docetaxel se administra a dosis bajas.

En determinados aspectos, una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administran a un sujeto que lo necesita, en donde cada dosis comprende de 0,1 a 20 mg/kg del peso corporal del sujeto y en donde cada dosis se administra de 0,5 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior.

- 5 Una realización de la invención se refiere a una combinación de un anticuerpo anti-PD-1 (por ejemplo, REGN2810) y radioterapia para su uso en el tratamiento del glioblastoma multiforme (GBM) recién diagnosticado o recurrente. En determinadas realizaciones, una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administran a un sujeto que lo necesita, en donde cada dosis comprende de 0,1 a 20 mg/kg del peso corporal del sujeto y en donde cada dosis se administra de 0,5 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En determinadas realizaciones, la radiación es radioterapia hipofraccionada como se describe en el presente documento.

- 10 Determinadas realizaciones de la invención se refieren a una combinación de un anticuerpo anti-PD-1 (por ejemplo, REGN2810) y radioterapia para su uso en el tratamiento del carcinoma epidermoide de cuello uterino, carcinoma epidermoide anal, carcinoma de células de Merkel, adenocarcinoma de intestino delgado o carcinoma seroso de ovario. En determinadas realizaciones, una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administran a un sujeto que lo necesita, en donde cada dosis comprende de 0,1 a 20 mg/kg del peso corporal del sujeto y en donde cada dosis se administra de 0,5 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En determinadas realizaciones, la radiación es radioterapia hipofraccionada como se describe en el presente documento.

- 20 En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en métodos para el tratamiento de tumores grandes o neoplasias malignas avanzadas, comprendiendo los métodos administrar a un sujeto que lo necesita un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia y un agente terapéutico adicional, en donde el agente terapéutico adicional se administra para superar la inmunodepresión mediada por linfocitos T reguladores (Treg). En determinadas realizaciones, el agente terapéutico adicional se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo anti-GITR, un anticuerpo anti-LAG3, ciclofosfamida y GM-CSF.

- 25 Como se utiliza en el presente documento, la expresión "tumor grande" se refiere al tamaño del tumor. Por lo general, se correlaciona con un mayor peso tumoral o carga tumoral. En determinadas realizaciones, se correlaciona con el estadio de la enfermedad, por ejemplo, neoplasia maligna avanzada. En determinadas realizaciones, se correlaciona con una mayor probabilidad de metástasis.

- 30 En determinadas realizaciones, la presente invención incluye administrar una o más dosis de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia y una dosis subterapéutica de ciclofosfamida. Como se utiliza en el presente documento, una dosis subterapéutica de ciclofosfamida (también denominada en el presente documento "ciclofosfamida en dosis bajas") significa una cantidad de ciclofosfamida que por sí misma no imparte un efecto terapéutico y preferentemente no provoca toxicidad. Las dosis ilustrativas de ciclofosfamida que se consideran "subterapéuticas" en el contexto de la presente invención incluyen 100 mg/m², 90 mg/m², 80 mg/m² o menos.

- 40 En un aspecto, la presente invención incluye métodos que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radiación a un sujeto que está en un régimen terapéutico antineoplásico previo. El régimen terapéutico antineoplásico previo puede comprender un ciclo de administración de, por ejemplo, un agente antineoplásico. El anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia puede añadirse al régimen terapéutico antineoplásico previo. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 se añade como parte de un programa de "reducción gradual del tratamiento previo", en donde la terapia antineoplásica previa se va retirando de manera gradual del sujeto a lo largo del tiempo (por ejemplo, por etapas) mientras se administra el anticuerpo anti-PD-1 al sujeto a una dosis constante, a una dosis creciente o a una dosis decreciente, a lo largo del tiempo. Por ejemplo, la terapia antineoplásica previa puede comprender un agente antineoplásico que puede administrarse en una dosis baja o en una dosis subterapéutica. En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en métodos para tratar un cáncer, comprendiendo los métodos administrar una o más dosis de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia y una o más dosis de un agente antineoplásico, en donde el agente antineoplásico se administra a una dosis subterapéutica.

- 55 En la invención, la radioterapia se administra a una primera lesión tumoral, pero no a una segunda lesión tumoral, en donde la administración en combinación con el anticuerpo anti-PD-1 conduce a la regresión tumoral tanto en la primera como en la segunda lesión tumoral (efecto abscópico). La presente invención comprende la administración de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia para generar un efecto abscópico prolongado.

- 60 En determinadas realizaciones, los métodos comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia, en donde la administración de la combinación conduce a una mayor inhibición del crecimiento tumoral. En determinadas realizaciones, el crecimiento tumoral se inhibe en al menos aproximadamente un 10 %, aproximadamente un 20 %, aproximadamente un 30 %, aproximadamente un 40 %, aproximadamente un 50 %, aproximadamente un 60 %, aproximadamente un 70 % o aproximadamente un 80 % en comparación con un sujeto no tratado o un sujeto al que se le administró anticuerpo o radiación como monoterapia. En determinadas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-PD-1 y/o radioterapia conduce a un aumento de la regresión tumoral, encogimiento y/o desaparición del tumor. En determinadas

realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-PD-1 o radioterapia conduce a un retraso en el crecimiento y desarrollo del tumor, por ejemplo, el crecimiento del tumor puede retrasarse aproximadamente 3 días, más de 3 días, aproximadamente 7 días, más de 7 días, más de 15 días, más de 1 mes, más de 3 meses, más de 6 meses, más de 1 año, más de 2 años o más de 3 años en comparación con un sujeto no tratado o un sujeto tratado con anticuerpo o radiación como monoterapia. En determinadas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia evita la recidiva del tumor y aumenta la duración de la supervivencia del sujeto, por ejemplo, aumenta la duración de la supervivencia en más de 15 días, más de 1 mes, más de 3 meses, más de 6 meses, más de 12 meses, más de 18 meses, más de 24 meses, más de 36 meses o más de 48 meses que un sujeto no tratado o un sujeto al que se le administra anticuerpo o radiación como monoterapia. En determinadas realizaciones, la administración del anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia aumenta la supervivencia sin progresión o la supervivencia general. En determinadas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia aumenta la respuesta y la duración de la respuesta en un sujeto, por ejemplo, en más del 2 %, más del 3 %, más del 4 %, más del 5 %, más del 6 %, más del 7 %, más del 8 %, más del 9 %, más del 10 %, más del 20 %, más del 30 %, más del 40 % o más del 50 % sobre un sujeto no tratado o un sujeto que ha recibido anticuerpos o radiación como monoterapia. En determinadas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-PD-1 y/o radioterapia a un sujeto con cáncer conduce a la desaparición completa de toda evidencia de células tumorales ("respuesta completa"). En determinadas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-PD-1 y/o radioterapia a un sujeto con cáncer conduce a al menos un 30 % o más de disminución de las células tumorales o del tamaño del tumor ("respuesta parcial"). En determinadas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-PD-1 y/o radioterapia a un sujeto con cáncer conduce a la desaparición completa o parcial de las células/lesiones tumorales, incluidas nuevas lesiones mensurables. La reducción del tumor se puede medir mediante cualquiera de los métodos conocidos en la materia, por ejemplo, rayos X, tomografía de emisión de positrones (TEP), tomografía computarizada (TC), obtención de imágenes por resonancia magnética (MRI), citología, histología o análisis genéticos moleculares.

En determinadas realizaciones, la presente invención comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1, en donde la administración del anticuerpo anti-PD-1 conduce a un aumento de la supervivencia general (SG) o supervivencia sin progresión (SSP) del paciente en comparación con un paciente al que se le administra una terapia de 'tratamiento habitual' (SOC, del inglés "standards-of-care") (por ejemplo, quimioterapia, cirugía o radiación). En determinadas realizaciones, la SSP aumenta al menos un mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 1 año, al menos 2 años o al menos 3 años en comparación con un paciente al que se le administra una o más terapias SOC. En determinadas realizaciones, la SG aumenta al menos un mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 1 año, al menos 2 años o al menos 3 años en comparación con un paciente al que se le administra una o más terapias SOC.

En el presente documento, se describen kits que comprenden un anticuerpo anti-PD-1 para usos terapéuticos. Los kits generalmente incluyen una etiqueta que indica el uso previsto del contenido del kit y las instrucciones de uso. El término etiqueta incluye cualquier material escrito o grabado suministrado en o con el kit, o que de otro modo acompaña al kit. En consecuencia, esta divulgación proporciona un kit para tratar a un sujeto que padece un cáncer, comprendiendo el kit: (a) una dosis de un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo que se une de manera específica a PD-1 e inhibe la actividad de PD-1; y (b) instrucciones para utilizar el anticuerpo anti-PD-1 en cualquiera de los métodos terapéuticos divulgados en el presente documento. En determinados aspectos para tratar pacientes humanos, el kit comprende un anticuerpo anti-PD-1 humano divulgado en el presente documento, por ejemplo, REGN2810. En otros aspectos, el anticuerpo anti-PD-1 puede ser uno cualquiera de nivolumab, pembrolizumab o cualquiera de los anticuerpos anti-PD-1 divulgados en el presente documento. En determinados aspectos, la dosis del anticuerpo anti-PD-1 varía de 0,1 a 10 mg/kg de peso corporal. En determinados aspectos, la dosis del anticuerpo anti-PD-1 comprende de 50 a 600 mg.

Métodos para suprimir los linfocitos T reguladores

En el presente documento, se describen métodos para suprimir o inhibir la activación y/o proliferación de linfocitos T reguladores (Treg). En determinados aspectos, la presente divulgación proporciona métodos para suprimir la actividad de los linfocitos Treg. Los métodos, de acuerdo con estos aspectos, comprenden seleccionar un sujeto con un tumor sólido y administrar al sujeto un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo en combinación con al menos uno de (i) radioterapia y (ii) un antagonista del receptor del factor de necrosis tumoral inducido por glucocorticoides (GITR, del inglés "glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor"). En determinados aspectos, los métodos comprenden administrar a un sujeto que lo necesita un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo en combinación con radioterapia y un antagonista de GITR.

En determinados aspectos, el antagonista de GITR es un anticuerpo anti-GITR o un fragmento de unión a antígeno del mismo. De acuerdo con determinados aspectos ilustrativos de la presente divulgación, el anticuerpo anti-GITR o un fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena pesada (HCVR), una región variable de cadena ligera (LCVR) y/o regiones determinantes de complementariedad (CDR) que comprenden las secuencias de aminoácidos de cualquiera de los anticuerpos anti-GITR como se establece en el documento USSN

62/256.922 (presentado el 18 de noviembre de 2015). Otros anticuerpos anti-GITR que se pueden utilizar en el contexto de los métodos de la presente divulgación incluyen cualquiera de los anticuerpos anti-GITR como se establece en, por ejemplo, las patentes de EE. UU. n.º 9228016, 8709424, 8591886, 7812135 o la publicación de la patente de EE. UU. n.º 20150368349.

En el presente documento, se describen métodos para suprimir o eliminar la actividad de los Treg, comprendiendo los métodos administrar a un sujeto que lo necesite un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo en combinación con una o más dosis de radiación y un antagonista del antígeno 4 de linfocito T citotóxico (CTLA, del inglés "cytotoxic T-lymphocyte antigen"). En determinados aspectos, el antagonista del CTLA es un anticuerpo anti-CTLA (por ejemplo, ipilimumab).

En el presente documento, se describen métodos para suprimir o eliminar la actividad de los Treg, comprendiendo los métodos administrar a un sujeto que lo necesite un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo en combinación con una o más dosis de radiación y un antagonista del gen de activación de linfocitos 3 (LAG-3, del inglés "lymphocyte activation gene 3"). En determinados aspectos, el antagonista de LAG-3 es un anticuerpo anti-LAG-3. Los anticuerpos anti-LAG-3 que se pueden utilizar en el contexto de los métodos de la presente divulgación se divulgan en el documento USSN 15/289.032 (presentado el 7 de octubre de 2016).

En el presente documento, se describen métodos para suprimir o eliminar la actividad de los Treg, comprendiendo los métodos administrar a un sujeto que lo necesite un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo en combinación con una o más dosis de radiación y ciclofosfamida.

En un aspecto, los métodos de la presente divulgación comprenden la administración de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia y un agente terapéutico adicional seleccionado del grupo que consiste en un antagonista de GITR, un anticuerpo anti-LAG-3 y ciclofosfamida a un sujeto con un tumor sólido, en donde la administración da como resultado un efecto seleccionado del grupo que consiste en inhibición del crecimiento tumoral, reducción en el tamaño de un tumor, retraso en el crecimiento del tumor, inhibición de la metástasis tumoral, reducción de lesiones metastásicas a lo largo del tiempo, uso reducido de agentes quimioterápicos o citotóxicos, aumento de la supervivencia, respuesta completa, respuesta parcial y enfermedad estable. En determinados aspectos, la administración da como resultado la reducción de la carga tumoral en el sujeto. En determinados aspectos, el sujeto tiene un tumor grande. Como se define en otra parte del presente documento, la expresión "tumor grande" se refiere al tamaño del tumor y se correlaciona con una mayor carga tumoral y una mayor probabilidad de aparición de metástasis. En determinados aspectos, el término se refiere a una neoplasia maligna avanzada.

Anticuerpos anti-PD-1 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos

En la presente invención, los métodos comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 o de un fragmento de unión a antígeno del mismo. El término "anticuerpo", como se utiliza en el presente documento, incluye moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, así como multímeros de las mismas (por ejemplo, IgM). En un anticuerpo normal, cada cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (abreviada en el presente documento como HCVR o V_H) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada comprende tres dominios, C_H1, C_H2 y C_H3. Cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (abreviada en el presente documento como LCVR o V_L) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera comprende un dominio (C_L1). Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR, del inglés "complementarity determining regions"), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR, del inglés "framework regions"). Cada V_H y V_L está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino hasta el extremo carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. En diferentes realizaciones de la invención, las FR del anticuerpo anti-PD-1 (o parte de unión a antígeno del mismo) pueden ser idénticas a las secuencias de la línea germinal humana, o pueden estar modificadas de forma natural o artificial. Una secuencia consenso de aminoácidos puede definirse basándose en un análisis paralelo de dos o más CDR.

El término "anticuerpo", como se utiliza en el presente documento, también incluye fragmentos de unión a antígeno de moléculas de anticuerpo completas. Las expresiones "porción de unión a antígeno" de un anticuerpo, "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo y similares, como se utiliza en el presente documento, incluyen cualquier polipéptido o glucoproteína de origen natural, obtenible de manera enzimática, sintético o modificado por ingeniería genética que se une de manera específica a un antígeno para formar un complejo. Pueden obtenerse fragmentos de unión a antígeno de un anticuerpo, por ejemplo, a partir de moléculas de anticuerpo completas, usando cualquier técnica convencional adecuada tal como digestión proteolítica o técnicas de ingeniería genética recombinante que implican la manipulación y expresión de ADN que codifica dominios variables, y opcionalmente constantes, de anticuerpo. Dicho ADN se conoce y/o se puede adquirir fácilmente de, por ejemplo, fuentes comerciales, bibliotecas de ADN (incluyendo, por ejemplo, fagotecas de anticuerpos) o puede sintetizarse. El ADN puede secuenciarse y manipularse químicamente o usando técnicas de biología molecular, por ejemplo, para disponer uno o más dominios variables y/o constantes en una configuración adecuada, o para introducir codones, crear restos de cisteína, modificar,

añadir o eliminar aminoácidos, etc.

Los ejemplos no limitantes de fragmentos de unión a antígeno incluyen: (i) fragmentos Fab; (ii) fragmentos F(ab')₂; (iii) fragmentos Fd; (iv) fragmentos Fv; (v) moléculas Fv monocatenarias (scFv); (vi) fragmentos dAb; y (vii) unidades de reconocimiento mínimo que consisten en los restos de aminoácidos que imitan la región hipervariable de un anticuerpo (por ejemplo, una región determinante de la complementariedad (CDR) aislada, tal como un péptido CDR3) o un péptido FR3-CDR3-FR4 restringido. Otras moléculas modificadas por ingeniería genética, tales como anticuerpos específicos de dominio, anticuerpos de un solo dominio, anticuerpos de dominio eliminado, anticuerpos quiméricos, anticuerpos injertados con CDR, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, nanocuerpos (por ejemplo, nanocuerpos monovalentes, nanocuerpos bivalentes, etc.), agentes inmunofarmacéuticos modulares pequeños (SMIP, del inglés "small modular immunopharmaceuticals") y dominios IgNAR variables de tiburón, también se incluyen dentro de la expresión "fragmento de unión a antígeno", como se usa en el presente documento.

Un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo normalmente comprenderá al menos un dominio variable. El dominio variable puede ser de cualquier tamaño o composición de aminoácidos y generalmente comprenderá al menos una CDR que está adyacente a o en el marco con una o más secuencias marco. En fragmentos de unión a antígeno que tienen un dominio V_H asociado a un dominio V_L, los dominios V_H y V_L pueden situarse uno con respecto al otro en cualquier disposición adecuada. Por ejemplo, la región variable puede ser dimérica y contener los dímeros V_H-V_H, V_H-V_L o V_L-V_L. Como alternativa, el fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo puede contener un dominio V_H o V_L monomérico.

En determinados aspectos, un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo puede contener al menos un dominio variable unido covalentemente con al menos un dominio constante. Las configuraciones ilustrativas, no limitantes, de dominios variables y constantes que se pueden encontrar dentro de un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo incluyen: (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; y (xiv) V_L-C_L. En cualquier configuración de dominios variables y constantes, incluyendo cualquiera de las configuraciones ilustrativas enumeradas anteriormente, los dominios variables y constantes pueden estar unidos directamente entre sí o pueden estar unidos mediante una región bisagra o enlazadora completa o parcial. Una región bisagra puede consistir en al menos 2 (por ejemplo, 5, 10, 15, 20, 40, 60 o más) aminoácidos que dan como resultado una unión flexible o semiflexible entre dominios variables y/o constantes adyacentes en una única molécula polipeptídica. Además, un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de la presente invención puede comprender un homodímero o heterodímero (u otro multímero) de cualquiera de las configuraciones de dominio variable y constante enumeradas anteriormente en asociación no covalente entre sí y/o con uno o más dominios V_H o V_L monoméricos (por ejemplo, mediante enlaces disulfuro).

El término "anticuerpo", como se utiliza en el presente documento, también incluye anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos). Un anticuerpo multiespecífico o fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo normalmente comprenderá al menos dos dominios variables diferentes, en donde cada dominio variable es capaz de unirse de manera específica a un antígeno separado o a un epítipo diferente en el mismo antígeno. Cualquier formato de anticuerpo multiespecífico puede adaptarse para su uso en el contexto de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo de la presente invención utilizando técnicas habituales disponibles en la materia. Por ejemplo, la presente invención incluye métodos que comprenden el uso de anticuerpos biespecíficos en donde una rama de una inmunoglobulina es específica para PD-1 o un fragmento del mismo y la otra rama de la inmunoglobulina es específica para una segunda diana terapéutica o está conjugada con una fracción terapéutica. Los formatos biespecíficos ilustrativos que pueden usarse en el contexto de la presente invención incluyen, sin limitación, por ejemplo, formatos biespecíficos basados en scFv o de diacuerpo, fusiones IgG-scFv, dominio variable doble (DVD)-Ig, cuádrima, "botón en ojal", cadena ligera común (por ejemplo, cadena ligera común con "botón en ojal", etc.), CrossMab, CrossFab, (SEED) cuerpo, cremallera de leucina, Duocuerpo, IgG1/IgG2, Fab de acción doble (DAF)-IgG y formatos biespecíficos de Mab² (véase, por ejemplo, Klein *et al.*, 2012, mAbs 4:6, 1-11, y las referencias citadas en el mismo, para una revisión de los formatos anteriores). También se pueden construir anticuerpos biespecíficos usando conjugación de péptido/ácido nucleico, por ejemplo, en donde se utilizan aminoácidos no naturales con reactividad química ortogonal para generar conjugados de oligonucleótido y anticuerpo específicos de sitio que después se autoensamblan en complejos multiméricos con composición, valencia y geometría definidas. (Véanse, por ejemplo, Kazane *et al.*, J. Am. Chem. Soc. [Publicación electrónica: 4 de diciembre de 2012]).

Los anticuerpos usados en la presente invención pueden ser anticuerpos humanos. La expresión "anticuerpo humano", como se utiliza en el presente documento, pretende incluir anticuerpos que tienen regiones variables y constantes procedentes de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. Los anticuerpos humanos de la divulgación pueden incluir, no obstante, restos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica de sitio *in vitro* o mediante mutación somática *in vivo*), por ejemplo, en las CDR y, en particular, CDR3. Sin embargo, la expresión "anticuerpo humano", como se utiliza en el presente documento, no pretende incluir anticuerpos en los que secuencias de CDR procedentes de la línea germinal de otra especie de mamífero, tal como un ratón, se han injertado en secuencias marco humanas.

Los anticuerpos utilizados en los métodos de la presente invención pueden ser anticuerpos recombinantes humanos.

La expresión "anticuerpo humano recombinante", como se utiliza en el presente documento, pretende incluir todos los anticuerpos humanos que se preparan, se expresan, se crean o se aíslan por medios recombinantes, tales como anticuerpos expresados usando un vector de expresión recombinante introducido por transfección en una célula hospedadora (que se describe en más detalle posteriormente), anticuerpos aislados de una biblioteca combinatoria de anticuerpos humanos recombinantes (que se describe en más detalle posteriormente), anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que es transgénico para los genes de inmunoglobulina humana [véase, por ejemplo, Taylor *et al.* (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295] o anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implique el corte y empalme de secuencias génicas de inmunoglobulina humana en otras secuencias de ADN. Dichos anticuerpos humanos recombinantes tienen regiones variables y constantes procedentes de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. En determinadas realizaciones, sin embargo, dichos anticuerpos humanos recombinantes se someten a mutagénesis *in vitro* (o, cuando se usa un animal transgénico para secuencias de Ig humana, mutagénesis somática *in vivo*) y, por tanto, las secuencias de aminoácidos de las regiones V_H y V_L de los anticuerpos recombinantes son secuencias que, aunque proceden de, y están relacionadas con, secuencias de V_H y V_L de la línea germinal humana, no pueden existir de forma natural dentro del repertorio de la línea germinal de anticuerpos humanos *in vivo*.

Los anticuerpos utilizados en la presente invención se unen de manera específica a PD-1. La expresión "se une de manera específica", o similares, significa que un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo forma un complejo con un antígeno que es relativamente estable en condiciones fisiológicas. Se conocen bien en la materia métodos para determinar si un anticuerpo se une de manera específica a un antígeno e incluyen, por ejemplo, diálisis en equilibrio, resonancia de plasmón superficial y similares. Por ejemplo, un anticuerpo que "se une de manera específica a" PD-1, como se usa en el contexto de la presente invención, incluye anticuerpos que se unen a PD-1 o parte del mismo con una K_D de menos de aproximadamente 500 nM, menos de aproximadamente 300 nM, menos de aproximadamente 200 nM, menos de aproximadamente 100 nM, menos de aproximadamente 90 nM, menos de aproximadamente 80 nM, menos de aproximadamente 70 nM, menos de aproximadamente 60 nM, menos de aproximadamente 50 nM, menos de aproximadamente 40 nM, menos de aproximadamente 30 nM, menos de aproximadamente 20 nM, menos de aproximadamente 10 nM, menos de aproximadamente 5 nM, menos de aproximadamente 4 nM, menos de aproximadamente 3 nM, menos de aproximadamente 2 nM, menos de aproximadamente 1 nM o menos de aproximadamente 0,5 nM, medida en un ensayo con resonancia de plasmón superficial. Un anticuerpo aislado que se une de manera específica a PD-1 humano puede, sin embargo, tener reactividad cruzada con otros antígenos, tales como moléculas de PD-1 de otras especies (no humanas).

De acuerdo con determinados aspectos ilustrativos de la presente divulgación, el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena pesada (HCVR), una región variable de cadena ligera (LCVR) y/o regiones determinantes de complementariedad (CDR) que comprenden las secuencias de aminoácidos de cualquiera de los anticuerpos anti-PD-1 como se establece en la publicación de patente de EE. UU. n.º 20150203579. En determinados aspectos ilustrativos, el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo que se puede utilizar en el contexto de los métodos de la presente divulgación comprende las regiones determinantes de la complementariedad de la cadena pesada (HCDR) de una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y las regiones determinantes de la complementariedad de la cadena ligera (LCDR) de una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2. En la invención, el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende tres HCDR (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres LCDR (LCDR1, LCDR2 y LCDR3), en donde la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8. En otras realizaciones más, el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una HCVR que comprende la SEQ ID NO: 1 y una LCVR que comprende la SEQ ID NO: 2. En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1, para el uso en la presente invención comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10. Un anticuerpo ilustrativo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 es el anticuerpo anti-PD-1 completamente humano conocido como REGN2810 y también como emplumab. De acuerdo con determinadas realizaciones ilustrativas, la presente invención comprende el uso de REGN2810 o un bioequivalente del mismo. El término "bioequivalente", como se utiliza en el presente documento, se refiere a anticuerpos anti-PD-1 o a proteínas de unión a PD-1 o a fragmentos de los mismos que son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas cuya velocidad y/o grado de absorción no muestran una diferencia significativa con los de REGN2810 cuando se administran a la misma dosis molar en condiciones experimentales similares, bien en una sola dosis o en múltiples dosis. En el contexto de la invención, el término se refiere a proteínas de unión a antígeno que se unen a PD-1, que no tienen diferencias clínicamente significativas con REGN2810 en cuanto a su seguridad, pureza y/o potencia.

De acuerdo con determinadas realizaciones de la presente invención, el anti-PD-1 humano, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una HCVR que tiene un 90 %, un 95 %, un 98 % o un 99 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 1.

De acuerdo con determinadas realizaciones de la presente invención, el anti-PD-1 humano, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una LCVR que tiene un 90 %, un 95 %, un 98 % o un 99 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 2.

De acuerdo con determinadas realizaciones de la presente invención, el anti-PD-1 humano, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una HCVR que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 que no tiene más de 5 sustituciones de aminoácidos. De acuerdo con determinadas realizaciones de la presente invención, el anti-PD-1 humano, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una LCVR que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 que no tiene más de 2 sustituciones de aminoácidos.

La identidad de secuencia puede medirse mediante cualquier método conocido en la materia (por ejemplo, GAP, BESTFIT y BLAST).

La presente divulgación también incluye el uso de anticuerpos anti-PD-1 en métodos para tratar un cáncer, en donde los anticuerpos anti-PD-1 comprenden variantes de cualquiera de las secuencias de aminoácidos HCVR, LCVR, y/o CDR divulgadas en el presente documento que tienen una o más sustituciones conservadoras de aminoácidos. Por ejemplo, la presente divulgación incluye utilizar anticuerpos anti-PD-1 que tienen secuencias de aminoácidos HCVR, LCVR, y/o CDR con, por ejemplo, 10 o menos, 8 o menos, 6 o menos, 4 o menos, etc., sustituciones conservadoras de aminoácidos respecto a cualquiera de las secuencias de aminoácidos HCVR, LCVR, y/o CDR divulgadas en el presente documento.

Otros anticuerpos anti-PD-1 incluyen, por ejemplo, los anticuerpos denominados y conocidos en la materia como nivolumab (patente de EE. UU. n.º 8008449), pembrolizumab (patente de EE. UU. n.º 8354509), MEDI0608 (patente de EE. UU. n.º 8609089), pidilizumab (patente de EE. UU. n.º 8686119) o cualquiera de los anticuerpos anti-PD-1 como se establece en las patentes de EE. UU. n.º 6808710, 7488802, 8168757, 8354509, 8779105 u 8900587.

Los anticuerpos anti-IL-PD-1 utilizados en el contexto de los métodos de la presente invención pueden tener características de unión dependientes del pH. Por ejemplo, un anticuerpo anti-PD-1 para su uso en los métodos de la presente invención puede presentar una unión reducida a PD-1 a pH ácido en comparación con el pH neutro. Como alternativa, un anticuerpo anti-PD-1 de la invención puede presentar una unión mejorada a su antígeno a pH ácido en comparación con el pH neutro. La expresión "pH ácido" incluye valores de pH inferiores a aproximadamente 6,2, por ejemplo, aproximadamente 6,0, 5,95, 5,9, 5,85, 5,8, 5,75, 5,7, 5,65, 5,6, 5,55, 5,5, 5,45, 5,4, 5,35, 5,3, 5,25, 5,2, 5,15, 5,1, 5,05, 5,0 o inferior. Como se utiliza en el presente documento, la expresión "pH neutro" significa un pH de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 7,4. La expresión "pH neutro" incluye valores de pH de aproximadamente 7,0, 7,05, 7,1, 7,15, 7,2, 7,25, 7,3, 7,35 y 7,4.

En determinados casos, "unión reducida a PD-1 a pH ácido en comparación con pH neutro" se expresa en términos de una proporción del valor de K_D del anticuerpo que se une a PD-1 a pH ácido con respecto al valor de K_D del anticuerpo que se une a PD-1 a pH neutro (o viceversa). Por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede considerarse que presenta "unión reducida a PD-1 a pH ácido en comparación con pH neutro" para los fines de la presente invención si el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo presenta una proporción de K_D ácida/neutra de aproximadamente 3,0 o superior. En determinadas realizaciones ilustrativas, la proporción de K_D ácida/neutra para un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la presente invención puede ser de aproximadamente 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 o superior.

Se pueden obtener anticuerpos con características de unión dependientes del pH, por ejemplo, rastreando una población de anticuerpos para la unión reducida (o potenciada) a un antígeno particular a pH ácido en comparación con pH neutro. Adicionalmente, las modificaciones del dominio de unión al antígeno a nivel de aminoácidos pueden producir anticuerpos con características dependientes del pH. Por ejemplo, mediante la sustitución de uno o más aminoácidos de un dominio de unión a antígeno (por ejemplo, dentro de una CDR) con un resto de histidina, puede obtenerse un anticuerpo con unión a antígeno reducida a pH ácido en relación con el pH neutro. Como se utiliza en el presente documento, la expresión "pH ácido" significa un pH de 6,0 o inferior.

Terapias de combinación

Los métodos de la presente invención comprenden administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1. Los métodos de la presente invención comprenden administrar radioterapia en combinación con el anticuerpo anti-PD-1 para una actividad aditiva o sinérgica para tratar un cáncer. Como se utiliza en el presente documento, la expresión "en combinación con" significa que la radioterapia se administra antes, después o al mismo tiempo que el anticuerpo anti-PD-1. La expresión "en combinación con" también incluye la administración secuencial o simultánea del anticuerpo anti-PD-1 y la radioterapia. Por ejemplo, cuando se administra "antes" de la radioterapia, el anticuerpo anti-PD-1 se puede administrar durante más de 150 horas, aproximadamente 150 horas, aproximadamente 100 horas, aproximadamente 72 horas, aproximadamente 60 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 36 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 10 horas,

aproximadamente 8 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 1 hora o aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 15 minutos o aproximadamente 10 minutos antes de la administración de la radioterapia. Cuando se administra "después" de la radioterapia, el anticuerpo anti-PD-1 se puede administrar aproximadamente 10 minutos, aproximadamente 15 minutos, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 36 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 60 horas, aproximadamente 72 horas o más de 72 horas después de la administración de la radioterapia. La administración "simultánea" con la radioterapia significa que el anticuerpo anti-PD-1 se administra al sujeto menos de 10 minutos (antes, después o al mismo tiempo) de la administración de la radioterapia.

En determinadas realizaciones, los métodos comprenden la administración de un agente terapéutico adicional en donde el agente terapéutico adicional es un fármaco contra el cáncer. Como se utiliza en el presente documento, "fármaco contra el cáncer" significa cualquier agente útil para tratar el cáncer que incluye, pero sin limitación, citotoxinas y agentes tales como antimetabolitos, agentes alquilantes, antraciclinas, antibióticos, agentes antimitóticos, procarbazona, hidroxiaurea, asparaginasa, corticosteroides, mitotano (O,P'-(DDD)), agentes biológicos (por ejemplo, anticuerpos e interferones) y radioactivos. Como se utiliza en el presente documento, "una citotoxina o agente citotóxico", también se refiere a un agente antineoplásico y significa cualquier agente que es perjudicial para las células. Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, Taxol® (paclitaxel), temozolamida, citocalasina B, gramicidina D, bromuro de etidio, emetina, cisplatino, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colchicina, doxorubicina, daunorubicina, dihidroxi-antracindiona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-desidrotosterona, glucocorticoides, procaina, tetracaina, lidocaína, propanolol y puromicina y análogos u homólogos de los mismos.

En determinadas realizaciones, los métodos comprenden la administración de un agente terapéutico adicional o un régimen o procedimiento terapéutico seleccionado del grupo que consiste en cirugía, un inhibidor del ligando de muerte programada 1 (PD-L1) (por ejemplo, un anticuerpo anti-PD-L1 como se divulga en la publicación de patente de EE. UU. 2015/0203580 o atezolizumab), un inhibidor del gen de activación de linfocitos 3 (LAG-3) (por ejemplo, un anticuerpo anti-LAG-3), un inhibidor de la proteína 4 asociada a linfocitos T citotóxicos (CTLA-4) (por ejemplo, ipilimumab), un inhibidor del receptor del factor de necrosis tumoral inducido por glucocorticoides (GITR) (por ejemplo, un anticuerpo anti-GITR), un inhibidor de la inmunoglobulina de linfocitos T y que contiene mucina 3 (TIM3), un inhibidor del atenuador de linfocitos B y T (BTLA), un inhibidor del inmunorreceptor de linfocitos T con dominios Ig e ITIM (TIGIT), un inhibidor de CD47, un antagonista de otro coinhibidor o ligando de linfocitos T (por ejemplo, un anticuerpo contra CD-28, 2B4, LY108, LAIR1, ICOS, CD160 o VISTA), un inhibidor de CD20 (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD20 o un anticuerpo biespecífico CD3/CD20), un inhibidor de indolamina-2,3-dioxigenasa (IDO), un antagonista del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) [por ejemplo, una "trampa de VEGF" tal como aflibercept u otra proteína de fusión inhibidora de VEGF como se establece en el documento US 7.087.411 o un anticuerpo anti-VEGF o fragmento de unión a antígeno del mismo (por ejemplo, bevacizumab, o ranibizumab) o un inhibidor de cinasa de molécula pequeña del receptor de VEGF (por ejemplo, sunitinib, sorafenib o pazopanib)], un inhibidor de la angiopoyetina 2 (Ang2) (por ejemplo, nesvacumab), un inhibidor del factor de crecimiento transformante β (TGF β), un inhibidor de CD38, un inhibidor del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) (por ejemplo, erlotinib, cetuximab), un agonista de un receptor coestimulador (por ejemplo, un agonista de la proteína relacionada con TNFR inducida por glucocorticoides), un anticuerpo contra un antígeno específico de tumores (por ejemplo, CA9, CA125, antígeno 3 asociado a melanoma (MAGE3), antígeno carcinoembrionario (CEA), vimentina, tumor-M2-PK, antígeno específico de la próstata (AEP), mucina-1, MART-1 y CA19-9], una vacuna (por ejemplo, bacilo de Calmette-Guerin, una vacuna contra el cáncer), ciclofosfamida, un adyuvante para aumentar la presentación de antígenos (por ejemplo, factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos), una citotoxina, un agente antineoplásico (por ejemplo, dacarbazina, temozolomida, docetaxel, doxorubicina, daunorubicina, cisplatino, carboplatino, gemcitabina, metotrexato, mitoxantrona, oxaliplatino, paclitaxel y vincristina), un inhibidor del receptor de interleucina-6 (IL-6R) (por ejemplo, sarilumab), un inhibidor de IL-4R (por ejemplo, dupilumab), un inhibidor de la IL-10, una citocina tal como IL-2, IL-7, IL-21 e IL-15, un conjugado de anticuerpo y fármaco (ADC, del inglés "antibody-drug conjugate") (por ejemplo, ADC anti-CD19-DM4 y ADC anti-DS6-DM4), linfocitos T receptores de antígeno quimérico (por ejemplo, linfocitos T dirigidos a CD19), un fármaco antiinflamatorio (por ejemplo, fármacos corticosteroides y antiinflamatorios no esteroideos) y un suplemento dietético tal como los antioxidantes.

En determinadas realizaciones, los métodos comprenden administrar un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia y, opcionalmente, un anticuerpo anti-GITR para generar respuestas antitumorales duraderas a largo plazo y/o mejorar la supervivencia de los pacientes con cáncer. En algunas realizaciones, los métodos comprenden administrar radioterapia antes, de simultánea o después de administrar un anticuerpo anti-PD-1 y un anticuerpo anti-GITR a un paciente con cáncer. Por ejemplo, la radioterapia se puede administrar en una o más dosis a las lesiones tumorales seguida de la administración de una o más dosis de los anticuerpos. En algunos aspectos, la radioterapia se puede administrar de manera local a una lesión tumoral para potenciar la inmunogenia local del tumor de un paciente (radiación adyuvante) y/o para destruir las células tumorales (radiación ablativa) seguida de la administración sistémica de un anticuerpo anti-PD-1 y/o un anticuerpo anti-GITR. En la invención, la radioterapia se administra a una primera lesión tumoral, pero no a una segunda lesión tumoral, en donde la administración en combinación con el anticuerpo anti-PD-1 conduce a la regresión tumoral tanto en la primera como en la segunda lesión tumoral (efecto

abscópico). En determinadas realizaciones, los métodos comprenden administrar un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia y, opcionalmente, un anticuerpo anti-GITR para generar un efecto abscópico prolongado.

- 5 En determinadas realizaciones, se puede administrar un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia y un agente antineoplásico (por ejemplo, temozolomida o ciclofosfamida), un antagonista de VEGF (por ejemplo, aflibercept) o factor estimulante de colonias de macrófagos de granulocitos.

Composiciones farmacéuticas y administración

- 10 La presente invención incluye administrar un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radiación a un sujeto en donde el anticuerpo anti-PD-1 está contenido dentro de una composición farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas de la divulgación pueden formularse con vehículos, excipientes y otros agentes adecuados que proporcionan transferencia, administración, tolerancia y similares. Se puede encontrar una multitud de formulaciones adecuadas en el formulario conocido por todos los químicos farmacéuticos: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing
15 Company, Easton, PA. Estas formulaciones incluyen, por ejemplo, polvos, pastas, pomadas, gelatinas, ceras, aceites, lípidos, vesículas que contienen lípidos (catiónicos o aniónicos) (tales como LIPOFECTIN™), conjugados de ADN, pastas de absorción anhidras, emulsiones de aceite en agua y agua en aceite, emulsiones de Carbowax (polietilenglicoles de diversos pesos moleculares), geles semisólidos y mezclas semisólidas que contienen Carbowax. Véase también Powell *et al.* "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol
20 52:238-311.

- Se conocen diversos sistemas de administración y pueden usarse para administrar la composición farmacéutica de la divulgación, por ejemplo, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, células recombinantes capaces de expresar los virus mutantes, endocitosis mediada por receptor (véase, por ejemplo, Wu *et al.*, 1987, J. Biol. Chem. 262: 4429-4432). Los métodos de administración incluyen, pero sin limitación, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y otras vías. La composición puede administrarse por cualquier vía conveniente, por ejemplo, por infusión o inyección en bolo, por absorción a través de revestimientos epiteliales o mucocutáneos (por ejemplo, mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, etc.) y puede administrarse junto con otros agentes biológicamente activos.

- 30 Una composición farmacéutica de la presente divulgación puede administrarse por vía subcutánea o por vía intravenosa con una aguja y una jeringa convencionales. Además, con respecto a la administración subcutánea, un dispositivo inyector de pluma tiene fácilmente aplicaciones en la administración de una composición farmacéutica de la presente divulgación. Dicho dispositivo inyector de pluma puede ser reutilizable o desechable. Un dispositivo
35 inyector de pluma reutilizable utiliza generalmente un cartucho reemplazable que contiene una composición farmacéutica. Una vez que se ha administrado toda la composición farmacéutica dentro del cartucho y que el cartucho se vacía, el cartucho vacío puede desecharse fácilmente y remplazarse por un nuevo cartucho que contiene la composición farmacéutica. El dispositivo inyector de pluma puede entonces reutilizarse. En un dispositivo inyector de pluma desechable, no hay cartucho reemplazable. Más bien, el dispositivo inyector de pluma desechable viene precargado con la composición farmacéutica mantenida en un depósito dentro del dispositivo. Una vez que el depósito se vacía de la composición farmacéutica, se desecha el dispositivo completo.

- En determinadas situaciones, la composición farmacéutica se puede administrar en un sistema de liberación controlada. En un aspecto, se puede usar una bomba. En otro aspecto, pueden usarse materiales poliméricos; véase, Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida. En otro
45 aspecto más, puede ubicarse un sistema de liberación controlada en las proximidades de la diana de la composición, siendo necesaria, por tanto, solo una fracción de la dosis sistémica (véase, por ejemplo, Goodson, 1984, en "Medical Applications of Controlled Release", mencionado anteriormente, vol. 2, págs. 115-138). Se analizan otros sistemas de liberación controlada en la revisión de Langer, 1990, *Science* 249:1.527-1.533.

- 50 Las preparaciones inyectables pueden incluir pautas posológicas para inyecciones intravenosas, subcutáneas, intracutáneas e intramusculares, infusiones por goteo, etc. Estas preparaciones inyectables pueden prepararse por métodos conocidos. Por ejemplo, las preparaciones inyectables pueden prepararse, por ejemplo, mediante disolución, suspensión o emulsión del anticuerpo o su sal descrita anteriormente en un medio acuoso estéril o un medio oleoso
55 usado convencionalmente para inyecciones. Como medio acuoso para inyecciones, existen, por ejemplo, solución salina fisiológica, una solución isotónica que contiene glucosa y otros agentes auxiliares, etc., que pueden usarse en combinación con un agente solubilizante adecuado tal como un alcohol (por ejemplo, etanol), un polialcohol (por ejemplo, propilenglicol, polietilenglicol), un tensioactivo no iónico [por ejemplo, polisorbato 80, HCO-50 (aducto de polioxietileno (50 mol) de aceite de ricino hidrogenado)], etc. Como medio oleoso, se emplean, por ejemplo, aceite de sésamo, aceite de soja, etc., que pueden usarse en combinación con un agente solubilizante tal como benzoato de bencilo, alcohol bencilico, etc. La inyección preparada de este modo se carga preferentemente en una ampolla adecuada.

- 65 De manera ventajosa, las composiciones farmacéuticas para su uso oral o parenteral descritas anteriormente se preparan en pautas posológicas en una dosis unitaria adecuada para ajustarse a una dosis de los principios activos. Dichas pautas posológicas en una dosis unitaria incluyen, por ejemplo, comprimidos, píldoras, cápsulas, inyecciones

(ampollas), supositorios, etc.

En determinados aspectos, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica que comprende una cantidad terapéutica de un anticuerpo anti-PD-1 y un vehículo farmacéutico. En determinados aspectos, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-PD-1 formulado en una composición farmacéutica para su uso en administración intravenosa.

Pautas de administración

La presente invención incluye administrar a un sujeto un anticuerpo anti-PD-1 con una frecuencia de dosificación de aproximadamente cuatro veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas, una vez cada cinco semanas, una vez cada seis semanas, una vez cada ocho semanas, una vez cada doce semanas o con menos frecuencia siempre que se logre una respuesta terapéutica. En determinadas realizaciones, la presente invención incluye administrar a un sujeto radioterapia con una frecuencia de dosificación de aproximadamente siete veces por semana, aproximadamente cuatro veces por semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas, una vez cada cinco semanas, una vez cada seis semanas, una vez cada ocho semanas, una vez cada doce semanas o con menos frecuencia siempre que se logre una respuesta terapéutica. En determinadas realizaciones, los métodos implican la administración de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia a una frecuencia de dosificación de aproximadamente siete veces por semana, aproximadamente cuatro veces por semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas, una vez cada cinco semanas, una vez cada seis semanas, una vez cada ocho semanas, una vez cada nueve semanas, una vez cada doce semanas o con menos frecuencia siempre que se logre una respuesta terapéutica.

En determinadas realizaciones, los métodos comprenden administrar radioterapia en donde la radioterapia es radioterapia hipofraccionada. En determinadas realizaciones, la radioterapia hipofraccionada comprende de 2 a 12 fracciones. En determinadas realizaciones, las 2 a 12 fracciones se administran en días consecutivos. En determinadas realizaciones, la radioterapia se administra después de administrar una o más dosis de un anticuerpo anti-PD-1. En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 se administra 0,5 a 2 semanas antes de la administración de una o más fracciones de radioterapia.

De acuerdo con determinadas realizaciones de la presente invención, pueden administrarse múltiples dosis de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia a un sujeto durante un ciclo de tiempo definido. Los métodos de acuerdo con este aspecto de la invención comprenden administrar de manera secuencial a un sujeto una o más dosis de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con una o más dosis de radiación. Como se utiliza en el presente documento, "administrar de manera secuencial" significa que cada dosis del anticuerpo se administra al sujeto en un punto temporal diferente, por ejemplo, en días diferentes separados por un intervalo predeterminado (por ejemplo, horas, días, semanas o meses). En determinadas realizaciones, los métodos comprenden administrar de manera secuencial una o más dosis de un anticuerpo anti-PD-1 en donde cada dosis se administra de 0,5 a 12 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En determinadas realizaciones adicionales, los métodos comprenden además la administración de radioterapia. La radioterapia puede ser radioterapia hipofraccionada. En determinadas realizaciones, la radioterapia comprende de 2 a 12 fracciones. En algunas realizaciones, las fracciones de radiación se administran en días consecutivos o en días alternos. En determinadas realizaciones, las fracciones de radiación se administran una vez cada 3 días, una vez cada 4 días, una vez cada 5 días, una vez cada 6 días, una vez cada 7 días o una combinación de los mismos.

En determinadas realizaciones, la presente invención comprende métodos que comprenden administrar de manera secuencial al paciente una dosis inicial única de un anticuerpo anti-PD-1, seguida por una o más dosis secundarias del anticuerpo anti-PD-1 y, opcionalmente, seguidas por una o más dosis terciarias del anticuerpo anti-PD-1. Los métodos comprenden además administrar de manera secuencial al paciente una única dosis inicial de radioterapia, seguida de una o más dosis secundarias de radioterapia y, opcionalmente, seguidas de una o más dosis terciarias de radioterapia. En realizaciones alternativas, los métodos comprenden además administrar de manera secuencial una o más fracciones de radioterapia hipofraccionada.

De acuerdo con determinadas realizaciones de la presente invención, pueden administrarse múltiples dosis de un anticuerpo anti-PD-1 y radioterapia a un sujeto durante un ciclo de tiempo definido. Los métodos de acuerdo con este aspecto de la invención comprenden administrar de manera secuencial a un sujeto múltiples dosis de un anticuerpo anti-PD-1 y radioterapia. Como se utiliza en el presente documento, "administrar de manera secuencial" significa que cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 en combinación con la radioterapia se administra al sujeto en un punto temporal diferente, por ejemplo, en días diferentes separados por un intervalo predeterminado (por ejemplo, horas, días, semanas o meses).

Las expresiones "dosis inicial", "dosis secundarias", y "dosis terciarias", se refieren a la secuencia temporal de administración. Por tanto, la "dosis inicial" es la dosis que se administra al inicio del régimen de tratamiento (también denominada "dosis de referencia"); las "dosis secundarias" son las dosis que se administran después de la dosis

inicial; y las "dosis terciarias" son las dosis que se administran después de las dosis secundarias. Las dosis inicial, secundarias y terciarias pueden contener todas la misma cantidad del anticuerpo (anticuerpo anti-PD-1). En determinadas realizaciones, sin embargo, la cantidad contenida en las dosis inicial, secundarias y/o terciarias varían entre sí (por ejemplo, ajustadas hacia arriba o hacia abajo según corresponda) durante el transcurso del tratamiento.

En determinadas realizaciones, una o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5) dosis se administran al comienzo del régimen de tratamiento como "dosis de carga" seguidas de dosis posteriores que se administran con menos frecuencia (por ejemplo, "dosis de mantenimiento"). Por ejemplo, se puede administrar un anticuerpo anti-PD-1 a un paciente con cáncer a una dosis de carga de aproximadamente 1 a 3 mg/kg seguida de una o más dosis de mantenimiento de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 mg/kg del peso corporal del paciente.

En una realización ilustrativa de la presente invención, cada dosis secundaria y/o terciaria se administra de $\frac{1}{2}$ a 14 (por ejemplo, 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, $14\frac{1}{2}$ o más) semanas después de la dosis inmediatamente anterior. La expresión "la dosis inmediatamente anterior", como se utiliza en el presente documento, significa, en una secuencia de administraciones múltiples, la dosis de anticuerpo anti-PD-1 (y/o radiación) que se administra a un paciente antes de la administración de la siguiente dosis en la secuencia sin dosis intermedias.

Los métodos de acuerdo con este aspecto de la invención pueden comprender administrar a un paciente cualquier cantidad de dosis secundarias y/o terciarias de un anticuerpo anti-PD-1 (y/o radioterapia). Por ejemplo, en determinadas realizaciones, solo se administra una dosis secundaria única al paciente. En otras realizaciones, al paciente se le administra dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis secundarias. Igualmente, en determinadas realizaciones, solo se administra una dosis terciaria única al paciente. En otras realizaciones, al paciente se le administra dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis terciarias.

En realizaciones que implican múltiples dosis secundarias, cada dosis secundaria puede administrarse a la misma frecuencia que las otras dosis secundarias. Por ejemplo, cada dosis secundaria puede administrarse al paciente de 1 a 2 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. De forma similar, en realizaciones que implican múltiples dosis terciarias, cada dosis terciaria puede administrarse a la misma frecuencia que las otras dosis terciarias. Por ejemplo, cada dosis terciaria puede administrarse al paciente de 2 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. Como alternativa, la frecuencia a la que se administran las dosis secundarias y/o terciarias a un paciente puede variar en el transcurso del régimen de tratamiento. La frecuencia de la administración también puede ajustarla un médico durante el transcurso del tratamiento, dependiendo de las necesidades del paciente individual después de la exploración clínica.

En determinadas realizaciones, una o más dosis de un anticuerpo anti-PD-1 y/o radiación se administran al comienzo de un régimen de tratamiento como "dosis de inducción" con más frecuencia (dos veces a la semana, una vez a la semana o una vez cada 2 semanas) seguidas por dosis posteriores ("dosis de consolidación" o "dosis de mantenimiento") que se administran con menos frecuencia (por ejemplo, una vez cada 2 a 12 semanas). En determinadas realizaciones, una o más dosis de un anticuerpo anti-PD-1 y radiación se administran al comienzo de un régimen de tratamiento como "dosis de inducción" con más frecuencia (dos veces a la semana, una vez a la semana o una vez cada 2 semanas) seguidas por dosis posteriores del anticuerpo anti-PD-1.

La presente invención incluye la administración secuencial de una o más dosis de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con una o más dosis de radioterapia en donde la una o más dosis comprenden uno o más ciclos de tratamiento.

De acuerdo con determinadas realizaciones de la presente invención, los métodos comprenden administrar al menos un ciclo de tratamiento en donde el al menos un ciclo de tratamiento comprende la administración de una o más dosis de un anticuerpo anti-PD-1 y una o más dosis de radioterapia. En determinadas realizaciones, un ciclo de tratamiento comprende de 1 a 10 dosis del anticuerpo anti-PD-1 en donde cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 se administra de 0,5 a 8 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En determinadas realizaciones, los métodos de la presente invención comprenden la administración de hasta 6 u 8 ciclos de tratamiento. En otras realizaciones determinadas, los métodos de la presente invención comprenden la administración de hasta 12 ciclos de tratamiento, o más según se requiera para el efecto terapéutico. Al menos un ciclo de tratamiento comprende además radioterapia. En algunas realizaciones, la radioterapia es radioterapia hipofraccionada, en donde la radioterapia hipofraccionada comprende de 2 a 12 fracciones. En determinadas realizaciones, las 2 a 12 fracciones se administran en días consecutivos.

La presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en métodos que comprenden la administración secuencial de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia, a un paciente para tratar un cáncer (por ejemplo, un tumor sólido). En algunas realizaciones, los presentes métodos comprenden administrar una o más dosis de un anticuerpo anti-PD-1 seguido de radioterapia. En determinadas realizaciones adicionales, la radioterapia se administra en fracciones (radiación hipofraccionada). En determinadas realizaciones, los presentes métodos comprenden administrar una dosis única de un anticuerpo anti-PD-1 seguida de 2 a 10 fracciones de radioterapia seguida de una o más dosis del anticuerpo anti-PD-1. En algunas realizaciones, se pueden administrar una o más dosis de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg de un anticuerpo

anti-PD-1 seguida de radioterapia para inhibir el crecimiento tumoral y/o evitar la recidiva del tumor en un sujeto con cáncer (por ejemplo, un tumor sólido). En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 se administra en una o más dosis seguidas de radioterapia que da como resultado una mayor eficacia antitumoral (por ejemplo, mayor inhibición del crecimiento tumoral, mayor prevención de la recidiva del tumor en comparación con un sujeto no tratado o un sujeto al que se le administró anticuerpo o radiación como monoterapia). Las realizaciones alternativas de la invención se refieren a la administración simultánea de anticuerpo anti-PD-1 y radiación que se administra a una frecuencia similar o diferente con respecto al anticuerpo anti-PD-1. En algunas realizaciones, la radioterapia se administra antes, después o al mismo tiempo que el anticuerpo anti-PD-1.

10 Dosificación

La cantidad de anticuerpo anti-PD-1 administrado a un sujeto de acuerdo con la presente invención es una cantidad terapéuticamente eficaz. Como se utiliza en el presente documento, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad de anticuerpo (anticuerpo anti-PD-1) que da como resultado uno o más de: (a) una reducción en la intensidad o duración de un síntoma o un indicio de cáncer, por ejemplo, un tumor sólido; (b) inhibición del crecimiento tumoral o aumento de la necrosis tumoral, encogimiento tumoral y/o desaparición del tumor; (c) retraso en el crecimiento y desarrollo del tumor; (d) inhibición de la metástasis tumoral; (e) prevención de la recidiva del crecimiento tumoral; (f) aumento de la supervivencia de un sujeto con cáncer; y/o (g) una reducción en el uso o necesidad de terapia antineoplásica convencional (por ejemplo, uso reducido o eliminado de agentes antineoplásicos o citotóxicos) en comparación con un sujeto no tratado o un sujeto administrado con el anticuerpo como monoterapia.

En el caso de un anticuerpo anti-PD-1, una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser de aproximadamente 0,05 mg a aproximadamente 600 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 500 mg, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 450 mg, de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 400 mg, de aproximadamente 75 mg a aproximadamente 350 mg, o de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 300 mg del anticuerpo. Por ejemplo, en diversas realizaciones, la cantidad del anticuerpo anti-PD-1 es de aproximadamente 0,05 mg, aproximadamente 0,1 mg, aproximadamente 1,0 mg, aproximadamente 1,5 mg, aproximadamente 2,0 mg, aproximadamente 10 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 70 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 90 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 110 mg, aproximadamente 120 mg, aproximadamente 130 mg, aproximadamente 140 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 160 mg, aproximadamente 170 mg, aproximadamente 180 mg, aproximadamente 190 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 210 mg, aproximadamente 220 mg, aproximadamente 230 mg, aproximadamente 240 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 260 mg, aproximadamente 270 mg, aproximadamente 280 mg, aproximadamente 290 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 310 mg, aproximadamente 320 mg, aproximadamente 330 mg, aproximadamente 340 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 360 mg, aproximadamente 370 mg, aproximadamente 380 mg, aproximadamente 390 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 410 mg, aproximadamente 420 mg, aproximadamente 430 mg, aproximadamente 440 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 460 mg, aproximadamente 470 mg, aproximadamente 480 mg, aproximadamente 490 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 510 mg, aproximadamente 520 mg, aproximadamente 530 mg, aproximadamente 540 mg, aproximadamente 550 mg, aproximadamente 560 mg, aproximadamente 570 mg, aproximadamente 580 mg, aproximadamente 590 mg o aproximadamente 600 mg del anticuerpo anti-PD-1. En una realización, se administran 250 mg de un anticuerpo anti-PD-1 de acuerdo con la presente invención. En una realización, se administran 200 mg de un anticuerpo anti-PD-1 de acuerdo con la presente invención. En una realización, se administran 350 mg de un anticuerpo anti-PD-1 de acuerdo con la presente invención.

La cantidad de anticuerpo anti-PD-1 contenida en las dosis individuales puede expresarse en términos de miligramos de anticuerpo por kilogramo del peso corporal del sujeto (es decir, mg/kg). En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 utilizado en la presente invención puede administrarse a un sujeto a una dosis de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 100 mg/kg del peso corporal del sujeto. En determinadas realizaciones, un anticuerpo anti-PD-1 puede administrarse a una dosis de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg del peso corporal del sujeto. En determinadas realizaciones, la presente invención comprende la administración de un anticuerpo anti-PD-1 a una dosis de aproximadamente 1 mg/kg, 3 mg/kg, 5 mg/kg o 10 mg/kg del peso corporal del paciente.

En determinados aspectos, la cantidad de anticuerpo anti-PD-1 administrado a un paciente puede ser menor que una cantidad terapéuticamente eficaz, es decir, una dosis subterapéutica. Por ejemplo, si la cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 comprende 3 mg/kg, una dosis subterapéutica comprende una cantidad inferior a 3 mg/kg, por ejemplo, 2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1 mg/kg, 0,5 mg/kg o 0,3 mg/kg. Como se define en el presente documento, una "dosis subterapéutica" se refiere a una cantidad del anticuerpo anti-PD-1 que no conduce a un efecto terapéutico por sí mismo. Sin embargo, en determinados aspectos, se administra una dosis subterapéutica de un anticuerpo anti-PD-1 con un segundo y, opcionalmente, un tercer agente terapéutico para promover un efecto terapéutico.

En determinadas realizaciones, la radioterapia administrada a un sujeto que la necesita comprende de 2 a 100 Gray (Gy). En determinadas realizaciones, la radioterapia comprende 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 20, 23, 25, 27, 30, 35, 40 o 45 Gy. En otras realizaciones determinadas, la radioterapia comprende de 50 a 100, de 60 a 90 o de 70 a 80 Gy. En

determinadas realizaciones, la radioterapia se administra en 2 a 12 fracciones (radioterapia hipofraccionada), en donde cada fracción comprende de 2 a 10 Gy. Por ejemplo, se administran 30 Gy de radiación divididos en 5 fracciones, comprendiendo cada fracción 6 Gy.

5 Ejemplos

Los siguientes ejemplos se presentan para proporcionar a los expertos en la materia una divulgación y descripción completas de cómo hacer y utilizar los métodos y composiciones de la invención, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran su invención. Se han realizado esfuerzos para garantizar la exactitud con respecto a los números utilizados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.) pero deben tenerse en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es peso molecular promedio, la temperatura está en grados centígrados y la presión es atmosférica o cercana a la atmosférica.

15 Ejemplo 1: Eficacia *in vivo* del anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia contra tumores MC38

En este ejemplo, se examinó el efecto del bloqueo de PD-1 en combinación con radioterapia frente a tumores MC38 establecidos en ratones.

Se implantaron 5×10^5 células de carcinoma de colon MC38 por vía subcutánea en los flancos derechos de ratones hembra C57BL/6 (Jackson Laboratory). El tratamiento se inició el día 9 después de la implantación cuando los volúmenes tumorales promedio alcanzaron aproximadamente 100 mm³. Los ratones se asignaron de manera aleatoria para recibir control con isotipo (2A3, BioXcell) o anticuerpo bloqueante de PD-1 (RMP1-14, BioXCell) a 5 mg/kg, dos veces por semana, para un total de 5 inyecciones intraperitoneales. Un día después del inicio del tratamiento con anticuerpo, los ratones asignados a los grupos de radioterapia recibieron 12 Gy de irradiación en los tumores del flanco derecho. La radioterapia se administró utilizando el irradiador de investigación biológica RS 2000 (Rad Source) a ratones anestesiados (ketamina/xilazina) protegidos con dispositivos de irradiación corporal parcial (Precision X-ray) y láminas de plomo (Images Scientific Instruments). El crecimiento del tumor se evaluó 3 veces a la semana hasta los días 70 a 80 cuando todos los ratones fueron sacrificados. La figura 1 muestra el diseño del estudio del experimento que incluye la dosificación del anticuerpo anti-PD-1 y la radiación.

La figura 2 y la tabla 1 muestran los volúmenes tumorales promedio en ratones a los que se les administró el anticuerpo anti-PD-1 solo o en combinación con la radiación.

35 **Tabla 1: Volúmenes tumorales promedio en ratones administrados con anticuerpo anti-PD-1 solo o en combinación con radiación**

Días después del implante	Volumen tumoral promedio (mm ³ ± EEM)			
	Control con isotipo	Anticuerpo anti-PD-1	Control con isotipo + radiación	Anticuerpo anti-PD-1 + radiación
4	15,39±3,70	8,62±3,02	13,28±3,44	10,78±3,01
7	41,11±8,81	38,90±7,09	49,86±11,38	39,36±6,32
8	68,64±10,01	72,03±12,13	74,03±14,83	73,70±14,86
10	85,82±4,10	94,98±22,68	100,88±11,46	122,05±15,05
14	725,87±68,45	834,37±206,70	320,10±58,80	300,67±60,74
16	1023,61±191,41	1123,51±310,04	276,17±82,81	219,29±45,94
18	1573,64±263,65	1710,30±424,30	353,45±121,47	250,17±74,70
21	2688,69±502,39	2569,65±633,35	494,53±211,90	188,98±105,80
23			597,70±267,02	141,37±73,76
25			671,93±347,76	134,87±75,67
28			879,64±403,70	147,82±70,88
30			1081,39±426,80	133,13±88,88
32				177,73±112,81
36				233,44±152,91
39				258,23±158,67
42				316,58±160,91
44				332,73±152,43
46				456,13±209,45
49				564,05±262,32
51				925,92±434,29
53				747,14±350,90
56				1290,10±584,62

El bloqueo de PD-1 (RMP1-14) se sinergizó con la irradiación local (XRT) e indujo de manera significativa la regresión tumoral (4/6 ratones) en ratones con tumor MC38, en comparación con los ratones tratados con XRT + control con isotipo (2/6 ratones). El crecimiento del tumor se inhibió o retrasó en los ratones tratados con anticuerpo anti-PD-1 en

combinación con la radiación. Los ratones tratados con el anticuerpo anti-PD-1 y la radiación tardaron más de 40 días en alcanzar los 500 mm³ de volumen tumoral en comparación con los ratones en monoterapia que tardaron menos de 20 días en alcanzar los 500 mm³ de volumen tumoral. La regresión tumoral se mantuvo durante hasta 4 semanas para el grupo tratado con la combinación (XRT + anticuerpo anti-PD-1) (1 de los 4 tumores rechazados recayó en este punto temporal) frente a 1,5 semanas para el grupo tratado con XRT + isotipo (1 de cada los 2 tumores rechazados recayeron). En este modelo de tumor, el bloqueo de PD-1 como monoterapia no tuvo efecto sobre el crecimiento del tumor primario.

Tabla 2: Porcentaje de supervivencia de ratones a los que se les administró anticuerpo anti-PD-1 solo o en combinación con radiación

días después de la implantación	isotipo	Anti-PD-1	Radiación + isotipo	Radiación + anti-PD-1
4	100	100	100	100
7	100	100	100	100
8	100	100	100	100
10	100	100	100	100
14	100	100	100	100
16	100	100	100	100
18	100	100	100	100
21	100	100	100	100
23	100	83	100	100
25	67	50	100	100
28	33	50	100	100
30	17	17	100	100
32	0	17	67	100
36	0	0	67	100
44	0	0	50	100
46	0	0	50	100
49	0	0	50	100
51	0	0	33	100
53	0	0	17	100
56	0	0	17	100
58	0	0	17	83
60	0	0	17	50
63	0	0	17	50
65	0	0	17	50
81	0	0	17	50
85	0	0	17	50

La eficacia terapéutica del tratamiento combinatorio (XRT + anticuerpo anti-PD-1) se demostró por el aumento estadístico de la supervivencia general de este grupo (50 % vivo a los 70 días después de la implantación del tumor) en comparación con todos los demás grupos de tratamiento: control con isotipo (0 % vivo en el día 70), tratamiento con anticuerpo anti-PD-1 (0 % vivo en el día 70) y ratones tratados con XRT + isotipo (17 % vivo en el día 70) (Figura 3; Tabla 2).

Ejemplo 2: Eficacia *in vivo* del anticuerpo anti-PD-1 y la radioterapia contra los tumores B16

En este ejemplo, se examinó el efecto antitumoral del anticuerpo anti-PD-1 de ratón en combinación con radioterapia contra tumores B16 establecidos en ratones.

Se implantaron 2×10^5 células de melanoma B16F10.9 por vía subcutánea en los flancos derechos de ratones hembra C57BL/6 (Jackson Laboratory). El tratamiento se inició cuando los volúmenes tumorales promedio alcanzaron aproximadamente 150 mm³. Los ratones se asignaron de manera aleatoria para recibir control con isotipo (2A3, BioXcell) o anticuerpo bloqueante de PD-1 (RMP1-14, BioXCell) a 5 mg/kg, dos veces por semana, para un total de 5 inyecciones intraperitoneales. Un día después del inicio del tratamiento con anticuerpo, los ratones asignados a los grupos de radioterapia recibieron 8 Gy de irradiación en los tumores del flanco derecho. La radioterapia se administró utilizando el irradiador de investigación biológica RS 2000 (Rad Source) a ratones anestesiados (ketamina/xilazina) protegidos con dispositivos de irradiación corporal parcial (Precision X-ray) y láminas de plomo (Images Scientific Instruments). El crecimiento del tumor se evaluó 3 veces a la semana hasta los días 70 a 80 cuando todos los ratones fueron sacrificados. La figura 4 muestra el diseño del estudio del experimento que incluye la dosificación del anticuerpo anti-PD-1 y la radiación.

El tratamiento con anticuerpos bloqueadores de PD-1 (RMP1-14) en combinación con irradiación local (XRT) retrasó el crecimiento del tumor primario B16 en comparación con la monoterapia con XRT o con anticuerpos anti-PD-1 (Figura

5; Tabla 3).

Tabla 3: Volúmenes tumorales promedio en ratones administrados con anticuerpo anti-PD-1 solo o en combinación con radiación

Días después del implante	Volumen tumoral promedio mm ³ ± EEM			
	Control con isotipo	Anticuerpo anti-PD-1	Control con isotipo + radiación	Anticuerpo anti-PD-1 + radiación
6	5,75±5,75	8,32±8,32	13,79±13,79	1,14±0,85
8	55,98±27,15	62,66±15,80	57,18±37,79	50,57±38,33
12	157,34±37,88	144,36±37,81	237,84±71,27	177,91±59,17
15	334,71±61,71	193,32±35,53	510,95±171,15	372,53±147,50
18	621,43±136,09	363,80±45,72	739,62±244,10	440,33±194,90
20	939,69±158,50	561,64±49,44	677,48±175,75	486,35±207,65
22	1329,77±202,01	772,16±118,26	759,15±235,94	512,67±220,30
25	2602,08±434,08	1343,42±120,65	1182,27±336,32	789,80±299,24
27		1533,03±179,88	1321,13±400,18	877,82±296,51
29		2104,46±350,48		944,67±333,16
33				1024,71±321,20
36				1237,68±340,52

5

Tabla 4: Porcentaje de supervivencia de ratones a los que se les administró anticuerpo anti-PD-1 solo o en combinación con radiación

días después de la implantación	isotipo	Anti-PD-1	Radiación + isotipo	Radiación + anti-PD-1
0	100	100	100	100
6	100	100	100	100
8	100	100	100	100
12	100	100	100	100
15	100	100	100	100
18	100	100	100	100
20	100	100	100	100
22	100	100	100	100
25	100	100	100	100
27	40	100	100	100
29	0	100	80	100
33	0	80	80	100
36	0	20	60	100
39	0	0	60	83
41	0	0	60	83
43	0	0	20	67
46	0	0	20	67
48	0	0	20	50
50	0	0	0	50
53	0	0	0	33
55	0	0	0	33
57	0	0	0	33
60	0	0	0	17
62	0	0	0	17
64	0	0	0	17
66	0	0	0	0

10 La combinación del tratamiento con XRT más anticuerpos anti-PD-1 aumentó la supervivencia general (50 % vivo en el día 50 después de la implantación) en comparación con XRT sola (0 % vivo en el día 50), anticuerpo anti-PD-1 solo (0 % vivo en el día 40) e isotipo solo (0 % vivo en el día 30) (Figura 6; Tabla 4).

Ejemplo 3: Eficacia *in vivo* del anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia contra tumores pulmonares metastásicos

15

En este ejemplo, se examinó el efecto del bloqueo de PD-1 en combinación con radioterapia frente a tumores establecidos y metastásicos en ratones.

20

Se implantaron $1,5 \times 10^5$ células de carcinoma mamario 4T1 por vía subcutánea en los flancos derechos de ratones hembra Balb/c (Jackson Laboratory). El tratamiento se inició el día 12 después de la implantación cuando los volúmenes tumorales promedio alcanzaron aproximadamente 100 mm³. Los ratones se asignaron de manera aleatoria

para recibir control con isotipo (2A3, BioXcell) o anticuerpo bloqueante de PD-1 (RMP1-14, BioXCell) a 5 mg/kg, dos veces por semana, para un total de 5 inyecciones intraperitoneales. Un día después del inicio del tratamiento con anticuerpo, los ratones asignados a los grupos de radioterapia recibieron 8 Gy de irradiación en los tumores del flanco derecho. La radioterapia se administró utilizando el irradiador de investigación biológica RS 2000 (Rad Source) a ratones anestesiados (ketamina/xilazina) protegidos con dispositivos de irradiación corporal parcial (Precision X-ray) y láminas de plomo (Images Scientific Instruments). El crecimiento del tumor se evaluó 3 veces por semana hasta el día 28, cuando todos los ratones se sacrificaron para evaluar la carga metastásica pulmonar usando un ensayo clonogénico. En resumen, el tejido pulmonar se disoció con DNAsa/Liberasa TL (Roche) y se cultivó en medio complementado con 6-tioguanina 60 μ M. Tras dos semanas en cultivo, las placas se tiñeron por contraste con azul de metileno y se enumeró el número de colonias (una colonia representa una célula 4T1 metastásica).

Se espera que el tratamiento con anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radiación promueva la regresión tumoral y medie la supresión del crecimiento metastásico.

Ejemplo 4: La eficacia *in vivo* del anticuerpo anti-PD-1 humano en combinación con radioterapia promueve el efecto abscópico contra los tumores distales

En este ejemplo, se examinó el efecto del bloqueo de PD-1 en combinación con radioterapia contra tumores MC38 primarios y distales en ratones humanizados para PD-1 usando anticuerpos anti-PD-1 humana.

El anticuerpo anti-PD-1 ilustrativo utilizado en el presente ejemplo es REGN2810 (también conocido como H4H7798N como se divulga en el documento US20150203579), un anticuerpo anti-PD-1 monoclonal completamente humano que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; un par de secuencias de aminoácidos HCVR/LCVR que comprende las SEQ ID NO: 1/2; y secuencias CDR de cadena pesada y ligera que comprenden las SEQ ID NO: 3 a 8.

Los ratones humanizados para PD-1 se diseñaron usando tecnología VelociGene® (Valenzuela *et al.*, 2003, Nat. Biotechnol. 21: 652-659; publicación de solicitud de patente de EE. UU. 2015/0366174).

Se implantaron 5×10^5 células de carcinoma de colon MC38 por vía subcutánea en ratones hembra PD-1/C57BL/6 humanizados el día 0 (tumor primario en el flanco derecho) y el día 3 (tumor en el flanco izquierdo; tumor distal). El tratamiento se inició cuando el volumen promedio del tumor primario alcanzó aproximadamente 150 mm³. Los ratones se asignaron de manera aleatoria para recibir control con isotipo o anticuerpo bloqueante de PD-1 (REGN2810) a 5 mg/kg, dos veces por semana, para un total de 8 inyecciones intraperitoneales. Un día después del inicio del tratamiento con anticuerpo, los ratones asignados a los grupos de radioterapia recibieron 8 Gy de irradiación en los tumores del flanco derecho. La radioterapia se administró utilizando el irradiador de investigación biológica RS 2000 (Rad Source) a ratones anestesiados (ketamina/xilazina) protegidos con dispositivos de irradiación corporal parcial (Precision X-ray) y láminas de plomo (Images Scientific Instruments). El crecimiento del tumor primario y secundario se evaluó 3 veces por semana hasta los días 70 a 80 cuando todos los ratones se sacrificaron. La figura 7 muestra el diseño del estudio del experimento que incluye la dosificación del anticuerpo anti-PD-1 y la radiación.

Resultados

Tumor primario: El tratamiento con bloqueo de PD-1 (REGN2810) se sinergizó con la irradiación local (XRT) en el rechazo de tumores MC38 primarios (4 de 6 ratones sin tumor) en comparación con los ratones tratados con XRT + control con isotipo (1/6 ratones sin tumor). La regresión del tumor se mantuvo en el grupo tratado con la combinación durante 8 semanas hasta el final del experimento frente a tres semanas para el grupo tratado con XRT + isotipo (el tumor rechazado recayó en este punto temporal) (Figura 8; Tabla 5).

Tabla 5: Volúmenes promedio de tumores primarios en ratones administrados con REGN2810 solo o en combinación con radiación

Días después del implante	Volumen tumoral promedio (mm ³ \pm EEM)			
	Control con isotipo	REGN2810	Control con isotipo + radiación	REGN2810 + radiación
4	8,47 \pm 5,22	13,86 \pm 7,13	9,02 \pm 3,07	3,75 \pm 3,75
5	14,32 \pm 4,76	22,08 \pm 2,69	27,54 \pm 4,90	10,00 \pm 3,17
7	39,43 \pm 5,36	35,47 \pm 6,73	42,72 \pm 8,00	32,80 \pm 10,60
9	62,68 \pm 12,03	84,73 \pm 20,91	68,27 \pm 11,65	47,26 \pm 11,65
10	111,78 \pm 24,45	108,15 \pm 27,17	96,18 \pm 18,07	75,13 \pm 11,56
11	147,89 \pm 36,11	176,67 \pm 43,99	111,87 \pm 10,12	110,27 \pm 25,02
12	171,76 \pm 41,23	154,97 \pm 44,16	153,69 \pm 16,06	121,88 \pm 29,86
14	304,95 \pm 94,96	221,70 \pm 65,96	147,22 \pm 19,77	144,71 \pm 34,28
17	609,24 \pm 227,64	296,69 \pm 95,14	116,65 \pm 27,03	135,26 \pm 57,41

(continuación)

Días después del implante	Volumen tumoral promedio (mm ³ ± EEM)			
	Control con isotipo	REGN2810	Control con isotipo + radiación	REGN2810 + radiación
19		369,17±128,37	114,85±38,73	124,59±55,50
21		442,13±158,80	127,77±36,92	130,00±78,30
24		641,92±275,23	198,40±67,81	113,25±74,51
26		896,32±389,54	252,51±98,39	116,90±101,35
28		1200,99±498,27	331,78±125,55	120,05±89,32
31			477,34±181,97	168,62±151,18
33				189,07±154,91
35				164,70±127,33
38				216,32±159,47
40				219,35±156,39
42				292,37±204,83

El bloqueo de PD-1 como monoterapia mediaba el rechazo en 2 de cada 5 ratones; sin embargo, 1 de los ratones que rechazaron su tumor primario, sucumbió al crecimiento de un tumor secundario, lo que dio como resultado que solo 1 ratón sobreviviera hasta el final del experimento. La potente eficacia terapéutica del tratamiento combinatorio (XRT + REGN2810) se demostró por un aumento de manera estadístico de la supervivencia general (~ 67 % vivo a los 70 días después de la implantación del tumor) en comparación con todos los demás grupos: control con isotipo o XRT solo (0 % vivo en el día 70) y REGN2810 como monoterapia (20 % vivo en el día 70) (Figura 9; Tabla 6).

Tabla 6: Porcentaje de supervivencia de ratones a los que se les administró REGN2810 solo o en combinación con radiación

días después de la implantación	isotipo	REGN2810	Radiación + isotipo	Radiación + REGN2810
0	100	100	100	100
4	100	100	100	100
5	100	100	100	100
7	100	100	100	100
9	100	100	100	100
10	100	100	100	100
11	100	100	100	100
12	100	100	100	100
14	100	100	100	100
17	100	100	100	100
19	83	100	100	100
21	83	100	100	100
24	83	100	100	100
26	50	100	100	100
28	33	100	100	100
31	33	67	100	100
33	33	33	83	100
35	33	33	67	100
38	33	33	50	100
40	17	17	50	100
42	17	17	50	100
44	17	17	50	100
49	0	17	17	83
54		17	0	83
56		17	0	83
59		17	0	83
61		17	0	67
63		17	0	67

Tumor distal: REGN2810 en combinación con XRT promovió de manera significativa un efecto abscópico (rechazo de un tumor implantado en un sitio distal) con 5 de 6 ratones sin tumor en comparación con XRT solo (2/6 distal sin tumor), REGN2810 solo (1/6 sin tumor distal) y ratones tratados con control con isotipo (1/6 sin tumor distal) (Figura 10; Tabla 7).

Tabla 7: Volúmenes promedio de tumores distales en ratones administrados con REGN2810 solo o en combinación con radiación

Días después del implante	Volumen tumoral promedio (mm ³ ± EEM)			
	Control con isotipo	REGN2810	Control con isotipo + radiación	REGN2810 + radiación
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
4	0	0	0	0
6	0	0	0	0
7	11,13±11,13	0	0	0
8	20,01±20,01	0	3,26±3,26	0
9	25,43±25,43	7,00±7,00	9,75±9,75	0
11	31,93±29,32	42,24±26,88	28,81±17,01	12,13±12,13
14	56,20±34,46	59,40±29,41	57,64±29,91	20,93±14,07
16		58,64±29,57	95,78±52,87	14,03±9,79
18		151,71±76,86	115,16±59,43	22,87±16,20
21		207,13±128,83	227,22±105,46	17,01±17,01
23		333,43±220,57	335,13±148,86	9,51±9,51
25		506,55±355,36	503,71±211,49	11,45±11,45
28			968,92±418,57	31,59±31,59
30				57,40±57,40
32				83,94±83,94
35				133,89±133,89
37				224,65±224,65

Ejemplo 5: Eficacia *in vivo* del anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia y un antagonista de GTR contra tumores MC38

En este ejemplo, se examinó el efecto del bloqueo de PD-1 en combinación con radioterapia y un antagonista del receptor del factor de necrosis tumoral inducido por glucocorticoides (GTR) (un anticuerpo anti-GTR) contra tumores MC38 establecidos grandes en ratones.

Se implantaron 5×10^5 células de carcinoma de colon MC38 por vía subcutánea en los flancos derechos de ratones hembra C57BL/6 (Jackson Laboratory). El tratamiento se inició cuando los volúmenes tumorales promedio alcanzaron aproximadamente de 150 a 200 mm³ (clasificados como "tumores grandes"). Los ratones se asignaron de manera aleatoria para recibir un anticuerpo de control con isotipo (2A3 o LTF-2; BioXcell), un anticuerpo anti-PD-1 (RMP1-14; BioXcell), un anticuerpo anti-GTR (DTA-1; BioXcell) o la combinación de anticuerpo anti-PD-1 y anticuerpo anti-GTR a 5 mg/kg, dos veces por semana, para un total de 5 inyecciones intraperitoneales. Un día después del inicio del tratamiento con anticuerpo, los ratones asignados a los grupos de radioterapia recibieron 8 Gy de irradiación en los tumores del flanco derecho. La radioterapia se administró utilizando el irradiador de investigación biológica RS 2000 (Rad Source) a ratones anestesiados (ketamina/xilazina) protegidos con dispositivos de irradiación corporal parcial (Precision X-ray) y láminas de plomo (Images Scientific Instruments). El crecimiento del tumor se evaluó 3 veces a la semana hasta los días 70 a 80 cuando todos los ratones fueron sacrificados. La figura 11 muestra el diseño del estudio del experimento que incluye la dosificación del anticuerpo anti-PD-1, el anticuerpo anti-GTR y la radiación.

El tratamiento con anticuerpo anti-PD-1 (RMP1-14) se sinergizó con la irradiación local (XRT) y el anticuerpo anti-GTR para rechazar tumores MC38 grandes (4 de 6 ratones sin tumor) en comparación con ratones tratados con XRT + anticuerpo anti-GTR (2/6 sin tumor), XRT + anticuerpo anti-PD-1 (2/6 rechazados) o XRT solo (0/6 sin tumor). La monoterapia (con anticuerpo anti-PD-1 o anticuerpo anti-GTR) o el tratamiento combinatorio (anticuerpo anti-PD-1 + anticuerpo anti-GTR) tuvo un efecto mínimo sobre el crecimiento tumoral con el tratamiento con anticuerpo anti-PD-1 o el anticuerpo anti-GTR que media el rechazo en 1/5 ratones y la combinación de los dos anticuerpos que media el rechazo en 2/5 ratones. La regresión del tumor se mantuvo durante hasta 6,5 semanas después del inicio del tratamiento para los ratones tratados con la triple combinación frente a 2 semanas para los ratones tratados con XRT + anticuerpo anti-GTR (Figura 12).

Tabla 8: Porcentaje de supervivencia de ratones a los que se les administró anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radiación y anticuerpo anti-GTR

Días después de la implantación	Isotipo	Anti-PD-1	Anti-GTR	Anti-PD-1 + anti-GTR	Radiación + isotipo	Radiación + anti-PD-1	Radiación + anti-GTR	Radiación + anti-PD-1 + anti-GTR
0	100	100	100	100	100	100	100	100
28	100	100	80	100	100	100	100	100
32	80	80	80	80	100	100	100	100
35	60	60	40	60	100	80	83	100
38	20	20	20	60	40	80	50	100

(continuación)

Días después de la implantación	Isotipo	Anti-PD-1	Anti-GITR	Anti-PD-1 + anti-GITR	Radiación + isotipo	Radiación + anti-PD-1	Radiación + anti-GITR	Radiación + anti-PD-1 + anti-GITR
41	0	20	20	60	20	60	50	100
48	0	20	20	60	0	60	50	83
56	0	20	20	40	0	40	33	67
66	0	20	20	40	0	40	17	67
77	0	20	20	40	0	40	17	67

La tabla 8 y la figura 13 muestran la supervivencia de ratones a los que se les administró el anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia y anticuerpo anti-GITR. Asimismo, la administración de anticuerpo anti-PD-1 + XRT condujo a la regresión tumoral de tumores muy grandes (~ 300 mm³).

Ejemplo 6: Eficacia *in vivo* del anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia y un antagonista de GITR contra tumores B16

En este ejemplo, se examinó el efecto del bloqueo de PD-1 en combinación con radioterapia y un antagonista de GITR (anticuerpo anti-GITR) contra tumores B16 establecidos en ratones.

Se implantaron $2,5 \times 10^5$ células de melanoma B16F10.9 por vía subcutánea en los flancos derechos de ratones hembra C57BL/6 (Jackson Laboratory). El tratamiento se inició cuando los volúmenes tumorales promedio alcanzaron aproximadamente 100 mm³. Los ratones se asignaron de manera aleatoria para recibir controles con isotipo (2A3, LTF-2; BioXcell), anticuerpo anti-PD-1 (RMP1-14, BioXcell), anticuerpo anti-GITR (DTA-1; BioXcell) o la combinación de anticuerpo anti-PD-1 y el anticuerpo anti-GITR a 5 mg/kg, dos veces por semana, para un total de 5 inyecciones intraperitoneales. Un día después del inicio del tratamiento con anticuerpo, los ratones asignados a los grupos de radioterapia recibieron 8 Gy de irradiación en los tumores del flanco derecho. La radioterapia se administró utilizando el irradiador de investigación biológica RS 2000 (Rad Source) a ratones anestesiados (ketamina/xilazina) protegidos con dispositivos de irradiación corporal parcial (Precision X-ray) y láminas de plomo (Images Scientific Instruments). El crecimiento del tumor se evaluó 3 veces a la semana hasta los días 70 a 80 cuando todos los ratones fueron sacrificados.

Se espera que el anticuerpo anti-PD-1 en combinación con el anticuerpo anti-GITR y la radioterapia promueva más regresión tumoral y retraso en el crecimiento del tumor que la monoterapia o el anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia.

Ejemplo 7: Ensayo clínico del anticuerpo anti-PD-1 y radioterapia en pacientes con tumores sólidos avanzados

Este estudio es un estudio sin ocultación, multicéntrico, de escala de dosis con múltiples brazos de aumento y expansión de dosis para investigar la eficacia, seguridad y tolerabilidad del anticuerpo anti-PD-1 solo y en combinación con otras terapias contra el cáncer (incluida la radioterapia), en pacientes adultos con tumores sólidos avanzados.

El anticuerpo anti-PD-1 ilustrativo utilizado en este estudio es REGN2810 (también conocido como H4H7798N como se divulga en el documento US20150203579), un anticuerpo anti-PD-1 monoclonal completamente humano que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; un par de secuencias de aminoácidos HCVR/LCVR que comprende las SEQ ID NO: 1/2; y secuencias CDR de cadena pesada y ligera que comprenden las SEQ ID NO: 3 a 8.

Objetivos del estudio

El objetivo principal del estudio es caracterizar la seguridad, tolerabilidad, toxicidades limitantes de la dosis (DLT, del inglés "dose limiting toxicities") de REGN2810 administrado por vía intravenosa (i.v.) como monoterapia o en combinación con radiación dirigida (con la intención de que esto sirva como inmunostimulador, en lugar de básicamente una terapia ablativa del tumor), ciclofosfamida en dosis bajas (una terapia que se ha demostrado que inhibe las respuestas de los linfocitos T reguladores), factor estimulador de colonia de granulocitos y macrófagos, carboplatino, docetaxel o una combinación de los mismos en pacientes con neoplasias malignas avanzadas.

Los objetivos secundarios del estudio son: (1) determinar una dosis recomendada de fase 2 (RP2D, del inglés "recommended phase 2 dose") de REGN2810 como monoterapia y en combinación con otras terapias contra el cáncer (radiación dirigida, ciclofosfamida en dosis bajas o ambas); (2) describir la actividad antitumoral preliminar de REGN2810, solo y con cada pareja(s) de combinación; (3) caracterizar la FC de REGN2810 como monoterapia y en combinación con otras terapias contra el cáncer (radiación dirigida, ciclofosfamida en dosis bajas o ambas); y (4) evaluar la inmunogenia de REGN2810.

Justificación del diseño del estudio

El modelo 3 + 3 para la fase de escalada de dosis de este estudio está diseñado para permitir la evaluación de la seguridad de REGN2810, tanto como monoterapia a diferentes niveles de dosis, como en combinación con tratamientos inmunoestimulantes: ciclofosfamida; radiación dirigida y limitada administrada en 1 de 2 regímenes de dosificación; o radiación y ciclofosfamida combinadas.

Una vez que se haya establecido la tolerabilidad de REGN2810 solo y en combinación con radiación y/o ciclofosfamida, se añaden múltiples cohortes de expansión que utilizan varias combinaciones o monoterapia en indicaciones seleccionadas [NSCLC, CM, HNSCC, CCCC, tumores con MSI (colorrectal, endometrial, de próstata u otros tipos de tumores), HCC y otros tumores sólidos avanzados] para confirmar aún más la seguridad y evaluar el aumento de la actividad antitumoral. Se añaden el factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), carboplatino y/o docetaxel a algunas de estas combinaciones.

La tabla 9 enumera algunas de las cohortes que utilizan REGN2810 en monoterapia y en combinación con otras modalidades de tratamiento.

Tabla 9: Una lista de algunas de las cohortes de expansión para las terapias combinadas y en monoterapia con REGN2810

Cohorte	Indicación	Tratamiento
1	Cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC)	Dosis fija - 200 mg de REGN2810
2	NSCLC	REGN2810 3 mg/kg + radioterapia (9 Gy × 3)
3	Carcinoma epidermoide de cabeza y cuello (HNSCC)	REGN2810 3 mg/kg + radioterapia (9 Gy × 3) + ciclofosfamida + GM-CSF
4	Cáncer de mama (CM)	REGN2810 3 mg/kg + radioterapia (9 Gy × 3) + ciclofosfamida
5	Tumores sólidos avanzados - Tratamiento previo con un anticuerpo anti-PD-1/PD-L1	REGN2810 3 mg/kg + radioterapia (9 Gy × 3) + ciclofosfamida + GM-CSF
6	Tumores sólidos avanzados (excluyendo NSCLC, HNSCC y CM)	REGN2810 3 mg/kg + radioterapia (9 Gy × 3) + ciclofosfamida + GM-CSF
7	Carcinoma espinocelular metastásico (M1) (CSCC)	REGN2810 3 mg/kg
8	CSCC avanzado local o regionalmente (M0) que es irresecable	REGN2810 3 mg/kg
9	Cáncer colorrectal metastásico con inestabilidad de microsátelites (MSI)	REGN2810 3 mg/kg
10	Cáncer de endometrio metastásico con MSI	REGN2810 3 mg/kg
11	Cáncer de próstata recurrente castrado con MSI	REGN2810 3 mg/kg
12	Cualquier otro tumor sólido avanzado con MSI	REGN2810 3 mg/kg
13	Cáncer hepatocelular avanzado o metastásico (HCC)	REGN2810 3 mg/kg
14	Tumor sólido avanzado resistente a la quimioterapia de primera línea	REGN2810 3 mg/kg + carboplatino + docetaxel (dosis baja)
15	Tumor sólido avanzado resistente a la quimioterapia de primera línea	REGN2810 3 mg/kg + docetaxel (dosis baja)
16	Cáncer colorrectal metastásico con MSI, sin tratamiento previo	REGN2810 3 mg/kg
17	NSCLC avanzado sin tratamiento previo	REGN2810 3 mg/kg + carboplatino + docetaxel (dosis baja)
18	Glioblastoma multiforme (GBM) recién diagnosticado	REGN2810 (1 o 3 mg/kg) + radioterapia (6 Gy × 5 días)
19	GBM recurrente	REGN2810 (1 o 3 mg/kg) + radioterapia (6 Gy × 5 días)
20	VIH y tumores sólidos	REGN2810 3 mg/kg
21	NSCLC avanzado, sin tratamiento previo	REGN2810 3 mg/kg + carboplatino + paclitaxel (dosis completa)
22	NSCLC avanzado no escamoso, sin tratamiento previo	REGN2810 3 mg/kg + cisplatino + pemetrexed
23	NSCLC escamoso avanzado, sin tratamiento previo	REGN2810 3 mg/kg + cisplatino + gemcitabina

(continuación)

Cohorte	Indicación	Tratamiento
24	Cáncer de cuello uterino, recurrente o metastásico	REGN2810 3 mg/kg
25	Carcinoma basocelular, resistente a la inhibición de la vía de Hedgehog	REGN2810 3 mg/kg
26	Tumores sólidos avanzados	REGN2810 3 mg/kg

El tratamiento inicial planificado con REGN2810 es cada 14 días durante un máximo de 48 semanas, con 24 semanas de observación de seguimiento. La radiación se administra una semana después de la primera dosis de REGN2810.

- 5 Se administra ciclofosfamida en dosis bajas a pacientes asignados a ciclofosfamida 1 día antes de cada una de las primeras 4 dosis de REGN2810.

Duración del estudio

- 10 Los pacientes reciben hasta 48 semanas de tratamiento, después de las cuales hay un período de seguimiento de 24 semanas. Un paciente recibe tratamiento hasta que se complete el período de tratamiento de 48 semanas o hasta que haya progresión de la enfermedad, toxicidad inaceptable, retirada del consentimiento o cumplimiento de otro criterio de retirada del estudio. Después de un mínimo de 24 semanas de tratamiento, los pacientes con respuestas completas (RC) confirmadas pueden optar por interrumpir el tratamiento y continuar con todas las evaluaciones relevantes del estudio (por ejemplo, evaluaciones de eficacia). Después de un mínimo de 24 semanas de tratamiento, los pacientes con evaluaciones de la carga tumoral de enfermedad estable (EE) o respuesta parcial (RP) que no han cambiado durante 3 evaluaciones tumorales sucesivas también pueden optar por interrumpir el tratamiento y continuar con todas las evaluaciones relevantes del estudio (por ejemplo, evaluaciones de la eficacia).

20 Población del estudio

- La población diana de este estudio comprende pacientes con neoplasias malignas avanzadas que no son candidatos para la terapia habitual, que no desean someterse a una terapia habitual o para quienes no se espera que una terapia disponible proporcione un beneficio clínico; y pacientes con neoplasias que son incurables y no han respondido o han mostrado progresión del tumor a pesar de la terapia habitual.

- Criterios de inclusión: Un paciente debe cumplir los siguientes criterios para ser elegible para su inclusión en el estudio: (1) progresión demostrada de un tumor sólido sin una opción terapéutica de referencia alternativa disponible; (2) al menos 1 lesión para la evaluación de la respuesta. Los pacientes asignados a radioterapia requieren al menos una lesión adicional que pueda irradiarse de manera segura sin afectar las lesiones índice y para la que la radiación a las dosis limitadas y paliativas contempladas se consideraría médicamente adecuada; (3) los pacientes deben haber recaído después o ser resistentes a la terapia de primera línea (y hasta 2 líneas de terapia previas) en el contexto de enfermedad recurrente o metastásica y deben tener la enfermedad para la que está indicada la radioterapia paliativa; (4) pacientes con cáncer metastásico con inestabilidad de microsatélites (MSI) resistente a hasta 2 líneas de terapia anteriores; (5) Estado general del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) ≤ 1 ; (6) más de 18 años de edad; (7) función hepática: a. bilirrubina total $\leq 1,5 \times$ el límite superior de la normalidad (LSN; si existen metástasis hepáticas $\leq 3 \times$ LSN), b. transaminasas $\leq 3 \times$ LSN (o $\leq 5,0 \times$ LSN, si existen metástasis hepáticas), c. fosfatasa alcalina (ALP) $\leq 2,5 \times$ LSN (o $5,0 \times$ LSN, si hay metástasis hepáticas); (8) función renal: creatinina sérica $\leq 1,5 \times$ LSN; (9) recuento de neutrófilos (RAN) $\geq 1,5 \times 10^9/l$; c. recuento de plaquetas $\geq 75 \times 10^9/l$; (10) capacidad para proporcionar el consentimiento informado firmado; y (11) capacidad y voluntad de cumplir con las visitas programadas, los planes de tratamiento, las pruebas de laboratorio y otros procedimientos relacionados con el estudio.

Tratamientos del estudio

- 45 REGN2810 se suministra como un líquido en frascos estériles de un solo uso. Cada frasco contiene un volumen suficiente para extraer 10 ml de REGN2810 a una concentración de 25 mg/ml. REGN2810 se administra de forma ambulatoria como una infusión i.v. de 30 minutos. La dosis de cada paciente depende del peso corporal individual. La dosis de REGN2810 se ajusta en cada ciclo para cambios en el peso corporal de ≥ 10 %. REGN2810 se administra solo o en combinación con radiación y/o ciclofosfamida. La ciclofosfamida se administra a 200 mg/m² o en dosis baja (100 mg/m²).

Monoterapia

- 55 REGN2810 se administrará de forma ambulatoria mediante infusión i.v. durante 30 minutos cada 14 días durante 48 semanas (es decir, los días 1, 15 \pm 3, 29 \pm 3, y 43 \pm 3 de un ciclo de 56 días). Los regímenes de monoterapia planificados que se asignarán pueden incluir: (i) infusión i.v. de 1 mg/kg durante 30 minutos cada 14 días durante 48 semanas; (ii) infusión de 3 mg/kg durante 30 minutos cada 14 días durante 48 semanas; (iii) infusión de 10 mg/kg durante 30 minutos cada 14 días durante 48 semanas; (iv) infusión de 0,3 mg/kg durante 30 minutos cada 14 días durante 48 semanas (si se determina que la DMT es inferior a 1 mg/kg); y (v) infusión i.v. de dosis fija de 200 mg durante 30 minutos cada 14 días durante 48 semanas.

Terapia de combinación

Se suministra de manera simultánea radioterapia, ciclofosfamida, GM-CSF, carboplatino y docetaxel con receta médica y se realiza un seguimiento de su uso, dosis, modificaciones de la dosis, reducciones o retrasos, así como cualquier posible AA resultante de su uso con el de REGN2810.

Administración conjunta de REGN2810 y radiación: REGN2810 se administrará mediante infusión i.v. durante 30 minutos cada 14 días durante 48 semanas en combinación con radioterapia desde el día 8 hasta el día 12. Los regímenes de combinación de REGN2810 y radioterapia planificados pueden incluir:

- infusión de REGN2810 1 mg/kg durante 30 minutos cada 14 días durante 48 semanas más 30 Gy de radioterapia (6 Gy × 5 veces/semana; administrada 1 semana después de la primera dosis de REGN2810, preferentemente en días consecutivos)
- infusión de REGN2810 1 mg/kg durante 30 minutos cada 14 días durante 48 semanas más 27 Gy de radioterapia (9 Gy × 3 veces/semana; administrada 1 semana después de la primera dosis de REGN2810, preferentemente en días no consecutivos)
- infusión de REGN2810 3 mg/kg durante 30 minutos cada 14 días durante 48 semanas más 30 Gy de radioterapia (6 Gy × 5 veces/semana; administrada 1 semana después de la primera dosis de REGN2810, preferentemente en días consecutivos)
- infusión de REGN2810 3 mg/kg durante 30 minutos cada 14 días durante 48 semanas más 27 Gy de radioterapia (9 Gy × 3 veces/semana; administrada 1 semana después de la primera dosis de REGN2810, preferentemente en días no consecutivos)

Los pacientes recibirán 30 Gy administrados como 5 fracciones de 6 Gy administrados diariamente comenzando 1 semana después de la primera dosis de REGN2810, o 27 Gy administrados como 3 fracciones de 9 Gy administrados en días alternos comenzando 1 semana después de la primera dosis de REGN2810. La lesión seleccionada para la radiación debe ser una lesión que pueda irradiarse de manera segura con irradiación focal sin afectar a la lesión o lesiones de referencia, y para las cuales la radiación en las dosis paliativas limitadas contempladas se consideraría médicamente adecuada.

Administración conjunta de REGN2810 y ciclofosfamida: REGN2810 se administra mediante infusión i.v. durante 30 minutos cada 14 días (2 semanas) durante 48 semanas en combinación con una infusión i.v. de ciclofosfamida de dosis baja de 100 mg/m² cada 14 días durante 4 dosis. Cada una de las 4 dosis de ciclofosfamida se administra 1 día antes de cada una de las primeras 4 dosis de REGN2810 (días -1, 14, 28 y 42 del primer ciclo de 56 días).

El régimen planificado de combinación de REGN2810 y ciclofosfamida es:

- Ciclofosfamida i.v. 100 mg/m² o 200 mg/m² cada 14 días (días -1, 14, 28 y 42 del primer ciclo de 56 días) para un total de 4 dosis; más
- infusión de REGN2810 3 mg/kg durante 30 minutos cada 14 días durante 48 semanas (dosis de monoterapia administrada de 3 mg/kg < DMT; si 3 mg/kg > DMT, la dosis será 1 mg/kg).

Administración conjunta de REGN2810, radiación y ciclofosfamida: El régimen de combinación planeado de REGN2810, radiación y ciclofosfamida incluye:

- Ciclofosfamida i.v. 100 mg/m² (dosis baja) cada 14 días (días -1, 14, 28 y 42 del primer ciclo de 56 días) para un total de 4 dosis; más
- 27 Gy de radioterapia (9 Gy × 3 veces/semana; administrado 7 u 8 días después de la primera dosis de REGN2810, preferentemente en días no consecutivos) o 30 Gy de radioterapia (6 Gy × 5 veces/semana; administrado 7 u 8 días después de la primera dosis de REGN2810, preferentemente en días consecutivos); más
- infusión de REGN2810 3 mg/kg durante 30 minutos cada 14 días durante 48 semanas (dosis de monoterapia administrada de 3 mg/kg < DMT; si 3 mg/kg > DMT, la dosis será 1 mg/kg)

Administración conjunta de REGN2810, radiación y GM-CSF: El régimen de combinación planeado de REGN2810, radiación y GM-CSF incluye:

- 250 µg de GM-CSF s.c. al día durante 7 días, para cuatro intervalos de 7 días (días 1 a 7, 15 a 21, 29 a 35 y 43 a 49 del primer ciclo de 56 días); más
- 27 Gy de radioterapia (9 Gy × 3 veces/semana; administrada 1 semana después de la primera dosis de REGN2810, preferentemente en días no consecutivos); más
- infusión de REGN2810 3 mg/kg durante 30 minutos cada 14 días durante 48 semanas (dosis de monoterapia administrada de 3 mg/kg < DMT; si 3 mg/kg > DMT, la dosis será 1 mg/kg)

Administración conjunta de REGN2810, radiación, GM-CSF y ciclofosfamida: El régimen de combinación planeado de REGN2810, radiación, GM-CSF y ciclofosfamida incluye:

- 250 µg de GM-CSF s.c. al día durante 7 días, para cuatro intervalos de 7 días (días 1 a 7, 15 a 21, 29 a 35 y 43 a 49 del primer ciclo de 56 días); más
- 27 Gy de radioterapia (9 Gy × 3 veces/semana; administrada 1 semana después de la primera dosis de REGN2810, preferentemente en días no consecutivos); más
- Ciclofosfamida i.v. 100 mg/m² o 200 mg/m² cada 14 días (días -1, 14, 28 y 42 del primer ciclo de 56 días) para un total de 4 dosis; más
- infusión de REGN2810 3 mg/kg durante 30 minutos cada 14 días durante 48 semanas (dosis de monoterapia administrada de 3 mg/kg < DMT; si 3 mg/kg > DMT, la dosis será 1 mg/kg)

Administración conjunta de REGN2810 y docetaxel con o sin carboplatino: La secuencia sugerida de administración del fármaco es docetaxel seguido de carboplatino (si está inscrito en una cohorte que contiene carboplatino), seguido de REGN2810:

- Docetaxel i.v. 30 mg/m² durante aproximadamente 1 hora los días 1, 8, 29 y 36 del primer ciclo de 56 días. Se administrará i.v. dexametasona 8 mg antes de la primera dosis de docetaxel. Para tratamientos posteriores con docetaxel, la dosis de premedicación con dexametasona puede ser de 8 mg o 4 mg, según el criterio del investigador
- Carboplatino i.v. ABC 2 durante aproximadamente 30 minutos los días 1, 8, 29 y 36 del primer ciclo de 56 días. La dosificación de carboplatino debe utilizar la fórmula de Calvert en la etiqueta de carboplatino. La eliminación de creatinina debe calcularse mediante la ecuación de Cockcroft-Gault.
- infusión de REGN2810 3 mg/kg durante aproximadamente 30 minutos cada 14 días durante 48 semanas

Procedimientos y Evaluaciones

Los procedimientos de detección que se realizarán incluyen β-HCG en suero, MRI cerebral y radiografías de tórax.

Los procedimientos de seguridad incluyen los antecedentes, examen físico, constantes vitales, electrocardiograma (ECG), coagulación, ensayos de seguridad inmunitaria (para pacientes tratados con REGN2810), evaluación de los síntomas B y evaluación del estado general, pruebas de laboratorio clínicas, AA y medicamentos simultáneos.

Los procedimientos de eficacia que se deben realizar para las evaluaciones de tumores incluyen TC o resonancias magnéticas, tomografía por emisión de positrones con 18F-fluorodesoxiglucosa (FDG-PET) y/o biopsias de tumores. Se realizará una TC o MRI para la evaluación del tumor en la visita de selección (dentro de los 28 días anteriores a la infusión) y durante cada ciclo (aproximadamente cada 8 semanas) el día 56 ± 3, y cuando se sospeche la progresión de la enfermedad. Adicionalmente, para los pacientes que no han progresado en el estudio, se realizan evaluaciones del tumor durante las visitas de seguimiento 3, 5 y 7. Una vez que se haya decidido utilizar una TC o una MRI, las evaluaciones posteriores se realizan utilizando la misma modalidad. Las evaluaciones de la respuesta tumoral se realizan de acuerdo con los criterios de evaluación de la respuesta en tumores sólidos RECIST versión 1.1 (Eisenhauer *et al.*, 2009, Eur. J. Cancer 45: 228-247). Las lesiones medibles seleccionadas como lesiones diana para las mediciones RECIST también se incluyen como lesiones índice para los criterios de respuesta relacionados con el sistema inmunitario (irRC; Nishino *et al.*, 2013, Clin. Cancer Res. 19: 3936-3943). La respuesta de RECIST se prioriza como evaluación estadística de la tasa de respuesta. Para un paciente individual, los irRC pueden informar la decisión sobre si continuar el tratamiento a discreción del investigador debido a la posibilidad de respuestas no convencionales.

Se recogen muestras de sangre para la evaluación de FC y anticuerpo antifármaco (ADA, del inglés "anti-drug antibody").

Variables del estudio

Las principales variables del estudio son la incidencia de la DLT y la incidencia e intensidad de los TEAE y los resultados de laboratorio anormales durante las 48 semanas de tratamiento.

Las variables secundarias son:

- Actividades antitumorales evaluadas utilizando los criterios adecuados para el indicio (descritos en otra parte de este documento):
 - ✓ Criterios de evaluación de la respuesta en tumores sólidos (RECIST; Eisenhauer *et al.*, 2009, Eur. J. Cancer 45: 228-247) medidos por TC o MRI
 - ✓ También se utilizan otros criterios de evaluación para tumores específicos en los que las mediciones RECIST no son lo habitual.
 - ✓ Criterios de respuesta relacionados con el sistema inmunitario (irRC; Nishino *et al.*, 2013, Clin. Cancer Res. 19: 3936-3943) aplicados a las mediciones RECIST. En todos los casos, RECIST (u otros criterios específicos del tumor) es la herramienta que rige para determinar la EP, EE, RC o RP. Los irRC se recopilan para decisiones clínicas y fines informativos.

- Incidencia de desarrollo de anticuerpos anti-REGN2810
- Actividad antitumoral medida mediante SSP y supervivencia general

5 Para los fines del estudio, los pacientes se vuelven a evaluar para determinar la respuesta cada 8 semanas. También se obtienen exploraciones de confirmación 4 semanas después de la documentación inicial de la respuesta objetiva o la enfermedad progresiva. La respuesta y la progresión se evalúan en este estudio utilizando los criterios internacionales propuestos por la guía revisada de criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos (RECIST, del inglés "Response Evaluation Criteria in Solid Tumors") (versión 1.1; Eisenhauer *et al.*, 2009, Eur. J. Cancer 45: 228-247). Los cambios en el diámetro más grande (medida unidimensional) de las lesiones tumorales y el diámetro más corto en el caso de los ganglios linfáticos malignos se utilizan en los criterios RECIST.

Selección de lesiones

15 **Enfermedad medible:** Las lesiones medibles se definen como aquellas que se pueden medir con precisión en al menos una dimensión (el diámetro más largo que se registrará) como ≥ 20 mm (≥ 2 cm) por radiografía de tórax o como ≥ 10 mm (≥ 1 cm) por TC, MRI o calibradores mediante examen clínico. Todas las medidas del tumor deben registrarse en milímetros (o fracciones decimales de centímetros). Nota: Véase a continuación la evaluación de las lesiones diana irradiadas.

20 **Ganglios linfáticos malignos:** Para ser considerado patológicamente agrandado y medible, un ganglio linfático debe tener ≥ 15 mm ($\geq 1,5$ cm) en el eje corto cuando se evalúa mediante una TC (se recomienda que el grosor del corte de la TC no sea superior a 5 mm [0,5 cm]). Al inicio del estudio y en el seguimiento, solo se medirá y se seguirá el eje corto.

25 **Enfermedad no medible:** Todas las demás lesiones (o sitios de enfermedad), incluyendo las lesiones pequeñas (diámetro más largo < 10 mm [< 1 cm] o ganglios linfáticos patológicos con ≥ 10 a < 15 mm [≥ 1 a $< 1,5$ cm] de eje corto), se consideran enfermedades no medibles. Las lesiones óseas, la enfermedad leptomeníngea, la ascitis, los derrames pleurales/pericárdicos, la linfangitis cutánea/enfermedad pulmonar, la enfermedad inflamatoria de las mamas y las masas abdominales (no seguidas mediante TC o MRI), se consideran no medibles. Nota: Las lesiones quísticas que cumplen los criterios de quistes simples definidos de manera radiográfica no deben considerarse lesiones malignas (ni medibles ni no medibles) ya que son, por definición, quistes simples. Las 'lesiones quísticas' que se cree que representan metástasis quísticas se pueden considerar lesiones medibles, si cumplen con la definición de susceptibilidad de medición descrita anteriormente. Sin embargo, si hay lesiones no quísticas en el mismo paciente, se prefieren para la selección como lesiones diana.

40 **Lesiones diana:** Todas las lesiones medibles hasta un máximo de 2 lesiones por órgano y 5 lesiones en total, representativas de todos los órganos implicados, deben identificarse como lesiones diana y registrarse y medirse al inicio del estudio. Las lesiones diana se seleccionan en función de su tamaño (lesiones con el diámetro más largo), son representativas de todos los órganos implicados, pero además incluyen aquellas que se prestan a mediciones repetidas reproducibles. Puede ser el caso que, en ocasiones, la lesión más grande no se presta a una medición reproducible, en cuyo caso se selecciona la siguiente lesión más grande que se puede medir de forma reproducible. Una suma de los diámetros (el más largo para las lesiones no ganglionares, eje corto para las lesiones ganglionares) para todas las lesiones diana se calcula y se indica como la suma de los diámetros en la situación inicial. Si los ganglios linfáticos deben incluirse en la suma, entonces solo se añade el eje corto a la suma. Los diámetros de la suma en la situación inicial se utilizan como referencia para caracterizar de manera adicional cualquier regresión tumoral objetiva en la dimensión medible de la enfermedad.

50 **Lesiones no diana:** Todas las demás lesiones (o sitios de la enfermedad), incluidas cualquier lesión medible por encima de las 5 lesiones diana, se identifican como lesiones no diana y se registran al inicio del estudio. No se requieren mediciones de estas lesiones, pero se observa la presencia, ausencia, o en casos raros, una progresión inequívoca de cada uno a lo largo del seguimiento.

Métodos para la evaluación de enfermedades medibles

55 Todas las medidas se toman y registran en notación métrica usando una regla o calibradores. Todas las evaluaciones iniciales se realizan lo más cerca posible del inicio del tratamiento y nunca más de 4 semanas antes del inicio del tratamiento. Se debe utilizar el mismo método de evaluación y la misma técnica para caracterizar cada lesión identificada y notificada al inicio del estudio y durante el seguimiento. Se prefiere la evaluación basada en imágenes a la evaluación mediante examen clínico, a menos que no se puedan obtener imágenes de las lesiones que se están siguiendo, pero se puedan evaluar mediante un examen clínico.

65 **Lesiones clínicas:** Las lesiones clínicas solo se consideran medibles cuando son superficiales (por ejemplo, nódulos cutáneos y ganglios linfáticos palpables) y tienen un diámetro ≥ 10 mm (≥ 1 cm) según se evalúa con calibradores (por ejemplo, nódulos cutáneos). En el caso de lesiones cutáneas, se recomienda la documentación por fotografía en color, que incluye una regla para estimar el tamaño de la lesión.

Radiografía de tórax: Las lesiones en la radiografía de tórax son aceptables como lesiones medibles cuando están claramente definidas y rodeadas por pulmón aireado. Sin embargo, se prefiere TC.

- 5 TC y MRI convencional: Esta guía ha definido la susceptibilidad de medición de las lesiones en la TC basándose en el supuesto de que el grosor del corte de la TC es de 5 mm (0,5 cm) o menos. Si en las TC el grosor de corte es superior a 5 mm (0,5 cm), el tamaño mínimo para una lesión medible debe ser el doble del grosor del corte. La MRI también es aceptable en determinadas situaciones.
- 10 PET-CT: Si la TC realizada como parte de una PET-CT tiene una calidad diagnóstica idéntica a la de una TC de diagnóstico (con contraste intravenoso y oral), entonces la parte de la TC de la PET-CT se puede utilizar para las mediciones RECIST y se puede utilizar de manera indistinta con la TC convencional para medir con precisión las lesiones cancerosas a lo largo del tiempo.
- 15 Ecografía: La ecografía no es útil para evaluar el tamaño de la lesión y no debe utilizarse como método de medición. Si se identifican nuevas lesiones mediante ecografía en el transcurso del estudio, se recomienda la confirmación mediante TC o MRI. Si existe preocupación por la exposición a la radiación en la TC, la MRI se puede utilizar en lugar de la TC en casos seleccionados.
- 20 Endoscopia y laparoscopia: No se recomienda la utilización de estas técnicas para la evaluación objetiva del tumor. Sin embargo, dichas técnicas pueden ser útiles para confirmar la respuesta patológica completa cuando se obtienen biopsias o para determinar la recaída en ensayos donde la recidiva es un criterio de valoración después de una respuesta completa (RC) o resección quirúrgica.
- 25 Marcadores tumorales: Los marcadores tumorales por sí solos no se pueden utilizar para evaluar la respuesta. Si los marcadores están inicialmente por encima del límite superior normal, deben normalizarse para que se considere que un paciente tiene una respuesta clínica completa.

Citología e histología: Estas técnicas se pueden utilizar para diferenciar entre respuestas parciales (RP) y respuestas completas (RC) en casos raros (por ejemplo, lesiones residuales en tipos de tumores, tales como los tumores de células germinales, donde pueden permanecer tumores benignos residuales conocidos). La confirmación citológica del origen neoplásico de cualquier derrame que aparece o empeora durante el tratamiento cuando el tumor medible ha cumplido los criterios de respuesta o enfermedad estable es obligatoria para diferenciar entre respuesta o enfermedad estable (un derrame puede ser un efecto secundario del tratamiento) y enfermedad progresiva.

- 30 FDG-PET: Si bien las evaluaciones de respuesta de FDG-PET necesitan estudios adicionales, a veces es razonable incorporar el uso de la exploración por FDG-PET para complementar la exploración por TC en la evaluación de la progresión (en particular, la posible "nueva" enfermedad). Las nuevas lesiones que se basan en imágenes de FDG-PET se pueden identificar de acuerdo con el siguiente algoritmo: a. FDG-PET negativa al inicio del estudio, con una FDG-PET positiva en el seguimiento es un signo de EP basado en una nueva lesión. b. Sin FDG-PET al inicio del estudio y una FDG-PET positiva en el seguimiento: Si la FDG-PET positiva en el seguimiento corresponde a un nuevo sitio de enfermedad confirmado por TC, esto es EP. Si la FDG-PET positiva en el seguimiento no se confirma como un nuevo sitio de enfermedad en la TC, se necesitan TC de seguimiento adicionales para determinar si realmente se está produciendo una progresión en ese sitio (si es así, la fecha de la EP será la fecha de la FDG-PET anormal inicial).
- 35 Si la FDG-PET positiva en el seguimiento corresponde a un sitio de enfermedad preexistente en la TC que no progresa según las imágenes anatómicas, esto no es EP. c. La FDG-PET puede utilizarse para mejorar una respuesta a una RC de una manera similar a una biopsia en los casos en los que se cree que una anomalía radiográfica residual representa fibrosis o cicatrización. El uso de FDG-PET en esta circunstancia debe describirse de forma prospectiva en el protocolo y debe estar respaldado por la bibliografía médica específica de la enfermedad para la indicación. Sin embargo, debe reconocerse que ambos enfoques pueden conducir a una RC falso positivo debido a las limitaciones de la FDG-PET y la resolución/sensibilidad de la biopsia. Nota: Una lesión de exploración con FDG-PET 'positiva' significa una que es ávida de FDG con una captación superior al doble de la del tejido circundante en la imagen de atenuación corregida.
- 40
- 45
- 50

55 Criterios de respuesta para la evaluación de las lesiones diana

- **Respuesta completa (RC):** Desaparición de todas las lesiones diana. Cualquier ganglio linfático patológico (ya sea diana o no diana) debe tener una reducción en el eje corto de <10 mm (<1 cm).
- **Respuesta parcial (RP):** Una disminución de al menos un 30 % en la suma de los diámetros de las lesiones diana, tomando como referencia la suma de los diámetros en la situación inicial.
- **Enfermedad progresiva (EP):** Una disminución de al menos un 20 % en la suma de los diámetros de las lesiones diana, tomando como referencia la suma más pequeña en el estudio (esto incluye la suma en la situación inicial si es la más pequeña en el estudio). Además del aumento relativo del 20 %, la suma también debe demostrar un aumento absoluto de al menos 5 mm (0,5 cm). (Nota: la aparición de una o más lesiones nuevas también se consideran progresiones).
- **Enfermedad estable (EE):** Ni una contracción suficiente para calificar como RP ni un aumento suficiente para

calificar como EP, tomando como referencia la suma más pequeña de los diámetros durante el estudio.

Criterios de respuesta para la evaluación de lesiones no diana

- 5 • **Respuesta completa (RC):** Desaparición de todas las lesiones no diana y normalización del nivel de marcadores tumorales. Todos los ganglios linfáticos deben tener un tamaño no patológico (eje corto <10 mm [<1 cm]). Nota: Si los marcadores tumorales están inicialmente por encima del límite superior normal, deben normalizarse para que se considere que un paciente tiene una respuesta clínica completa.
- 10 • **No RC/No EP:** Persistencia de una o más lesiones no diana y/o mantenimiento del nivel del marcador tumoral por encima de los límites normales.
- **Enfermedad progresiva (EP):** Aparición de una o más lesiones nuevas y/o progresión inequívoca de las lesiones no diana existentes. La progresión inequívoca normalmente no debería prevalecer sobre el estado de la lesión diana. Debe ser representativo del cambio general del estado de la enfermedad, no un aumento de una sola lesión.

Criterios de respuesta relacionados con el sistema inmunitario

Los criterios de respuesta relacionados con el sistema inmunitario difieren de RECIST (Versión 1.1) en que la suma de los diámetros más largos de todas las lesiones diana y las lesiones nuevas, si las hay, se utilizan para determinar la respuesta. La presencia de nuevas lesiones *per se* no determina la progresión; se considera la carga tumoral total.

Evaluación de las lesiones diana

- **Respuesta completa (RC):** Desaparición de todas las lesiones diana. Cualquier ganglio linfático patológico (ya sea diana o no diana) debe tener una reducción en el eje corto de <10 mm (<1 cm).
- 25 • **Respuesta parcial (RP):** Una disminución de al menos un 30 % en la suma de los diámetros de las lesiones diana, que incluyen nuevas lesiones, tomando como referencia la suma de los diámetros en la situación inicial.
- **Enfermedad progresiva (EP):** Una disminución de al menos un 20 % en la suma de los diámetros de las lesiones diana, que incluyen nuevas lesiones, tomando como referencia la suma más pequeña en el estudio (esto incluye la suma en la situación inicial si es la más pequeña en el estudio). Además del aumento relativo del 20 %, la suma
- 30 también debe demostrar un aumento absoluto de al menos 5 mm (0,5 cm).
- **Enfermedad estable (EE):** Ni una contracción suficiente para calificar como RP ni un aumento suficiente para calificar como EP, tomando como referencia la suma más pequeña de los diámetros durante el estudio e incluyendo las medidas de las nuevas lesiones.

Evaluación de lesiones no diana

- **Respuesta completa (RC):** Desaparición de todas las lesiones no diana y normalización del nivel de marcadores tumorales. Todos los ganglios linfáticos deben tener un tamaño no patológico (eje corto <10 mm [<1 cm]). Nota: Si los marcadores tumorales están inicialmente por encima del límite superior normal, deben normalizarse para que se considere que un paciente tiene una respuesta clínica completa.
- 40 • **No RC/No EP:** Persistencia de una o más lesiones no diana y/o mantenimiento del nivel del marcador tumoral por encima de los límites normales.
- **Enfermedad progresiva (EP):** Progresión inequívoca de las lesiones no diana existentes. La progresión inequívoca normalmente no debería prevalecer sobre el estado de la lesión diana. Debe ser representativo del cambio general del estado de la enfermedad, no un aumento de una sola lesión. Aunque una clara progresión de las lesiones "no diana" solo es excepcional, la opinión del médico tratante debe prevalecer en dichas circunstancias, y el estado de progresión debe confirmarse en un momento posterior.
- 45

Evaluación de los criterios de respuesta generales

- 50 La mejor respuesta general es la mejor respuesta registrada desde el inicio del tratamiento hasta la progresión/recidiva de la enfermedad (tomando como referencia para la progresión de la enfermedad las mediciones más pequeñas registradas desde el inicio del tratamiento). La asignación de mejor respuesta del paciente dependerá del logro de los criterios de medición y confirmación. Los criterios de evaluación de respuesta revisados en tumores sólidos (RECIST)
- 55 Versión 1.1 (Eisenhauer *et al.*, 2009, Eur. J. Cancer 45: 228-247) y los criterios de respuesta relacionados con el sistema inmunitario (irRC; Nishino *et al.*, 2013, Clin. Cancer Res. 19: 3936-3943) se resumen en las tablas 10 y 11 a continuación.

Tabla 10: Respuesta de acuerdo con RECIST revisado (versión 1.1)

Lesiones diana	Lesiones no diana	Lesiones nuevas	Respuesta general	Mejor respuesta general cuando se requiere confirmación
RC	RC	No	RC	≥4 semanas de confirmación
RC	No RC/No EP	No	RP	≥4 semanas de confirmación
RC	No evaluado	No	RP	≥4 semanas de confirmación
RP	No RC/No EP/no evaluado	No	RP	≥4 semanas de confirmación

(continuación)

Lesiones diana	Lesiones no diana	Lesiones nuevas	Respuesta general	Mejor respuesta general cuando se requiere confirmación
EE	No RC/No EP/no evaluado	No	EE	Documentado al menos una vez ≥ 4 semanas desde el inicio
EP	Cualquiera	Sí o no	EP	Sin EE previa, RP o RC
Cualquiera	EP	Sí o no	EP	Sin EE previa, RP o RC
Cualquiera	Cualquiera	Sí	EP	Sin EE previa, RP o RC
RC: respuesta completa; EP: enfermedad progresiva; RP: respuesta parcial; EE: enfermedad estable				

Tabla 11: Evaluación de los criterios de respuesta relacionados con el sistema inmunitario

Lesiones diana	Lesiones no diana	Lesiones nuevas	Respuesta general	Mejor respuesta general cuando se requiere confirmación
RC	RC	No	RC	≥ 4 semanas de confirmación
RC	No RC/No EP	No	RP	≥ 4 semanas de confirmación
RC	No evaluado	No	RP	≥ 4 semanas de confirmación
RP	No RC/No EP/no evaluado	Sí o no	RP	≥ 4 semanas de confirmación
EE	No RC/No EP/no evaluado	Sí o no	EE	Documentado al menos una vez ≥ 4 semanas desde el inicio
EP	Cualquiera	Sí o no	EP	Sin EE previa, RP o RC
Cualquiera	EP	Sí o no	EP	Sin EE previa, RP o RC
RC: respuesta completa; EP: enfermedad progresiva; RP: respuesta parcial; EE: enfermedad estable				

5 Evaluación de lesiones diana irradiadas

Las lesiones diana irradiadas se evalúan con una versión modificada de los criterios internacionales propuestos por el comité de criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos (RECIST), versión 1.1. Se incorporan definiciones adicionales más allá de las directrices de RECIST 1.1 específicas de este protocolo para definir el control local.

Los criterios de respuesta para las lesiones irradiadas son los siguientes:

Aumento de tamaño local (AL): Una disminución de al menos un 20 % en la suma del DL de la lesión diana, tomando como referencia el DL más pequeño desde el inicio del tratamiento. De manera ideal, esta determinación se hará en base a la evaluación de imágenes de TC.

Fallo local (FL): Se refiere al tumor primario tratado después de la terapia de protocolo y corresponde a cumplir con los dos criterios siguientes: (1) Aumento de la dimensión del tumor del 20 % como se definió anteriormente para el aumento de tamaño local (AL); (2) El tumor medible con criterios que cumplen con el AL debe ser ávido en la obtención de imágenes por tomografía por emisión de positrones (PET) con una captación de una intensidad similar a la PET de estadificación previa al tratamiento, O se debe realizar una biopsia del tumor medible para confirmar el carcinoma viable.

Control local (CL): La ausencia de fallo local.

El diámetro más largo (DL) para la lesión diana irradiada calculado a partir de la TC de planificación del tratamiento, utilizando ventanas adecuadas para tejidos específicos, se indica como DL inicial. El DL inicial se utiliza como referencia para caracterizar el tumor diana. Para una evaluación de seguimiento, las TC de diagnóstico realizadas con un algoritmo de reconstrucción contigua de 5 mm que utiliza ventanas pulmonares tomadas como parte del seguimiento programado del protocolo se prefieren como método de evaluación de la respuesta. Cuando las TC no están disponibles, se permite la determinación por MRI o rayos X, siempre que la lesión diana sea claramente visible.

Resultados

REGN2810 solo y en combinación es seguro y bien tolerado por los pacientes. La administración de REGN2810 solo o en combinación con otras modalidades de tratamiento inhibe el crecimiento tumoral y/o promueve la regresión tumoral en pacientes con tumores sólidos avanzados. La tasa de respuesta general es mejor para la terapia combinada con radiación en comparación con la monoterapia.

Hasta la fecha se han tratado 60 pacientes con neoplasias malignas sólidas avanzadas (47 % con cuatro o más terapias previas). Las neoplasias malignas sólidas avanzadas incluyen cáncer colorrectal, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama, sarcoma de tejidos blandos, cáncer suprarrenal, cáncer de ano, cáncer del apéndice, cáncer de vejiga, cáncer de cuello uterino, cáncer de endometrio, cáncer de esófago, cáncer de hígado, adenocarcinoma de pulmón no microcítico, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, sarcomatoide renal, cáncer de glándula salival, cáncer de piel no melanomatoso, carcinoma de células de Merkel, carcinoma epidermoide, carcinoma basocelular, cáncer de intestino delgado, cáncer de tiroides o cáncer de útero.

Cuarenta y dos pacientes (70 %) experimentaron uno o más acontecimientos adversos (AA) relacionados con el tratamiento. Los AA más frecuentes relacionados con el tratamiento fueron cansancio (28,3 %), artralgia (11,7 %) y náuseas (11,7 %). De los 60 pacientes evaluados para respuestas tumorales, hubo 11 (18,3 %) respuestas objetivas (RP/RC), mientras que 31 pacientes (51,7 %) mostraron control de la enfermedad (RC/RP/EE). En los 36 pacientes que recibieron terapia combinada, incluida la radioterapia, se observó respuesta objetiva en 6 pacientes (16,7 %) y control de la enfermedad en 19 pacientes (52,8 %). En los 24 pacientes que no recibieron radioterapia, se observó una respuesta objetiva en cinco pacientes (20,8 %) y control de la enfermedad en 12 pacientes (50 %). La tabla 12 muestra un resumen de los que respondieron al tratamiento.

Tabla 12: Sumario de los que respondieron

ID del sujeto	Cohorte de dosis	Tipo de cáncer	N.º de líneas de terapia anteriores	Mejor respuesta	Mejor % de reducción
41	R2810: 1 mg/kg	Colangiocarcinoma	5	RP	-41,2
50	R2810: 1 mg/kg	Carcinoma espinocelular	2	RC	-100,0
43	R2810: 10 mg/kg	Sarcoma de tejidos blandos	5	RP	-49,1
37	R2810: 10 mg/kg	Carcinoma basocelular	1	RP	-36,7
36	R2810: 3 mg/kg + CPA: 200 mg/m ²	Sarcoma de tejidos blandos	5	RP	-33,3
47	R2810: 1 mg/kg + XRT: 6 Gy × 5	Carcinoma epidermoide de cuello de útero	4	RP	-66,7
46	R2810: 1 mg/kg + XRT: 9 Gy × 3	Carcinoma epidermoide anal	3	RP	-57,1
49	R2810: 1 mg/kg + XRT: 9 Gy × 3	Carcinoma epidermoide de cuello de útero	3	RC	-100,0
48	R2810: 3 mg/kg + XRT: 6 Gy × 5	Carcinoma de células de Merkel	1	RP	-72,5
42	R2810: 3 mg/kg + XRT: 6 Gy × 5	Adenocarcinoma del intestino delgado	2	RP	-46,7
44	R2810: 3 mg/kg + XRT: 9 Gy × 3	Carcinoma seroso de ovario	6	RP	-52,4

Entre los que respondieron, la mediana del tiempo de respuesta para la monoterapia fue de 113 días (intervalo de 52 a 226) y para los pacientes con radioterapia fue de 59 días (intervalo de 56 a 113).

Ejemplo 8: Observaciones clínicas de bloqueo de PD-1 con el anticuerpo monoclonal REGN2810 que logra respuestas objetivas duraderas en cánceres de piel no melanoma metastásicos: carcinoma basocelular y carcinoma espinocelular

Introducción

El carcinoma basocelular (BCC) y el carcinoma espinocelular (CSCC) comparten la exposición a la luz ultravioleta como factor de riesgo dominante y, por lo tanto, estos tumores están hipermutados (Chalmers *et al.*, 2016, AACR Ann. Meeting, Abs 3576). En otras neoplasias malignas, la carga elevada de mutaciones se ha asociado con un beneficio clínico de la terapia con anticuerpos dirigidos contra el punto de control inmunitario PD-1 [Le *et al.*, 2015, New Engl. J. Med. 30 de mayo (Publicación electrónica previa a la impresión)]. Es más probable que los tumores altamente mutados expresen neoantígenos tumorales inmunogénicos que atraen a los linfocitos T efectores que pueden desencadenarse mediante el bloqueo del punto de control inmunitario PD-1 (Mandal y Chan 2016, Cancer Discov. 6: 1-12). Este ejemplo describe un paciente con BCC metastásico y un paciente con CSCC metastásico que se trataron con REGN2810, un anticuerpo monoclonal anti-PD-1 completamente humano en un ensayo de fase 1 en curso (NCT02383212; descrito en el ejemplo 7 en el presente documento).

Observación clínica 1

La paciente era una mujer de 66 años de edad a la que se le diagnosticó un BCC en estadio 1 que surge en la cara izquierda del mentón, que fue resecado con cirugía de Mohs. Se identificó una recidiva localizada en el mismo lugar 2 años después, y una escisión local amplia reveló invasión a la mandíbula izquierda y afectación de uno de los 18 ganglios linfáticos. El paciente recibió radiación adyuvante y permaneció en remisión durante 4 años, cuando se hicieron biopsias de los nódulos pulmonares agrandados observados en las imágenes de tórax de vigilancia y se confirmó la presencia de BCC metastásico. Posteriormente, la paciente recibió el inhibidor de la vía de Hedgehog (HHI) vismodegib durante 5 meses. Inicialmente respondió, pero dejó de hacerlo debido a la progresión de la enfermedad.

Seis meses después de la terapia con vismodegib y tras una progresión lenta continua, la paciente se inscribió en el

estudio de fase 1 de REGN2810 en una cohorte que recibió i.v. 10 mg/kg cada 2 semanas y recibió su primera dosis. Se siguieron dos metástasis pulmonares como lesiones diana. Las evaluaciones de la respuesta al final de las 8 semanas (aumento del 3 %) y a las 16 semanas (disminución del 10 %) demostraron una enfermedad estable según los criterios RECIST. La evaluación de la respuesta al final de las 24 semanas demostró una reducción en las mediciones del tumor del 37 % (Figura 14A), y esto se confirmó a las 32 semanas. El paciente ha tolerado bien el tratamiento y continúa con REGN2810 en tratamiento durante más de 10 meses.

Observación clínica 2

El paciente era un varón de 52 años diagnosticado con carcinoma espinocelular en la mejilla izquierda. Se sometió a una cirugía de Mohs con márgenes limpios. Experimentó múltiples recidivas y se sometió al menos a 9 cirugías de Mohs adicionales. Se sometió a una escisión local amplia sobre la mandíbula izquierda 4 años después y posteriormente a una parotidectomía izquierda en 20 meses. Además, se administró radioterapia adyuvante en la mejilla izquierda, mandíbula izquierda, cuello izquierdo (con cetuximab al mismo tiempo) y cuello bilateral (con carboplatino al mismo tiempo). Otras terapias sistémicas fueron capecitabina y cisplatino + docetaxel. Diez años después del diagnóstico inicial, fue sometido a escisión con márgenes limpios por una recidiva de la cicatriz en el cuello izquierdo de 2,2 cm. Posteriormente, el CSCC invasivo en los cuerpos vertebrales C4-C5 requirió descompresión emergente de la médula espinal cervical con corpectomía anterior C4-C5 y laminectomía posterior C4-C6. También desarrolló debilidad muscular en las extremidades inferiores que se cree que se debe a la afectación perineural y requirió el uso de un andador para la deambulación.

Estaba inscrito en el estudio de fase 1 en la primera cohorte, que recibió 1 mg/kg de REGN2810 cada dos semanas. A las pocas semanas de comenzar el tratamiento, su fuerza en las extremidades inferiores regresó de manera gradual y ya no requiere el uso del andador. La respuesta en la semana 16 se muestra en la figura 14B. La respuesta radiológica completa de la lesión del cuello izquierdo se logró en la semana 40. El paciente completó las 48 semanas previstas de protocolo de tratamiento con REGN2810. Continúa en estrecho seguimiento activo con su oncólogo médico sin evidencia clínica o radiográfica de recidiva de la enfermedad.

Análisis

Este ejemplo divulga la primera respuesta parcial confirmada en un paciente con BCC metastásico tratado con un inhibidor de PD-1 (REGN2810), así como una respuesta completa duradera en curso en un paciente con CSCC metastásico. Las respuestas profundas y sostenidas de estos pacientes fuertemente pretratados a la monoterapia anti-PD-1 en este estudio de fase 1 son coherentes con la hipótesis de que una elevada carga de mutaciones en BCC y CSCC provocaría inmunidad celular antitumoral que podría desencadenarse por el bloqueo de la vía del punto de control PD-1/PD-L1.

Este ejemplo apoya el principio general de que los cánceres de piel asociados a los rayos UV más allá del melanoma son sensibles al bloqueo de PD-1. Un modelo reduccionista predeciría que los tumores asociados a la radiación UV con mayor carga de mutaciones no sinónimas responderán mejor al bloqueo de PD-1 que aquellos con menor carga de mutaciones.

Ejemplo 9: Seguridad y eficacia del anticuerpo anti-PD-1 en pacientes con carcinoma espinocelular (CSCC) metastásico o localmente avanzado irresecable

Antecedentes

No existe un patrón de atención establecido para el CSCC metastásico o localmente avanzado irresecable. Debido al daño del ADN inducido por los rayos UV, la mayoría de los CSCC están hipermutados. Por tanto, estos tumores pueden responder al bloqueo del punto de control de PD-1. Este ejemplo describe pacientes con CSCC localmente avanzado o metastásico que se trataron con REGN2810, un anticuerpo monoclonal anti-PD-1 completamente humano en un ensayo de fase 1 en curso (NCT02383212; descrito en el ejemplo 7 en el presente documento).

Métodos

Las cohortes de expansión (CE) en el estudio de fase 1 de REGN2810 incluyeron pacientes con CSCC metastásico de manera distante (EC 7) y CSCC localmente avanzado (EC8) (Tabla 9). Todos los pacientes recibieron 3 mg/kg de REGN2810 por vía intravenosa cada 2 semanas durante un máximo de 48 semanas. Las biopsias de investigación se realizaron al inicio del estudio y el día 29 (y en la progresión, si fue posible). Para determinar la tasa de respuesta general, las mediciones tumorales se realizaron cada 8 semanas de acuerdo con RECIST 1.1.

Resultados

Se inscribieron 25 pacientes (10 en EC 7 y 15 en EC 8): mediana de la edad, 72,5 y (intervalo, 56 a 88 años); mediana de PS 1 (intervalo, 0 a 1); 20 H:5 M; mediana del número de regímenes de terapia sistémica previos, 1 (intervalo, 0 a 3). La mediana de exposición a REGN2810 fue de 6 dosis (intervalo, 1 a 22). Los acontecimientos adversos de

cualquier grado relacionados con el tratamiento más comunes fueron cansancio (16,7 %), náuseas, artralgia y erupción cutánea (8,3 % cada uno). Cada uno de los siguientes acontecimientos adversos relacionados con un grado ≥ 3 ocurrió una vez: elevación de AST, elevación de ALT, artralgia y erupción cutánea.

La tasa de respuesta general (RPu + RP + RC) y la tasa de control de la enfermedad (TRG + EE) fueron del 48 % (11/23; 3 RPu, 5 RP, 2 RC, 1 RCu) y del 70 % (16/23, incluyendo 5 EE), respectivamente. Dos pacientes aún no son evaluables. Se calcula la mediana de SSP y la mediana de SG, y solo un paciente ha experimentado EP durante el tratamiento con REGN2810 después de la respuesta inicial. Los estudios de ciencias correlativas están en proceso, incluida la secuenciación del ADN del tumor del exoma completo.

Conclusión

REGN2810 demuestra una actividad antitumoral sólida en pacientes con CSCC avanzado.

Ejemplo 10: Ensayo clínico del anticuerpo anti-PD-1 combinado con radioterapia hipofraccionada frente al tratamiento habitual en pacientes ≥ 65 años de edad con glioblastoma recién diagnosticado

Introducción

El glioblastoma es una enfermedad mortal con una mediana de supervivencia de aproximadamente 16 meses en pacientes recién diagnosticados (nGBM) y aproximadamente 9 meses en el entorno recurrente (rGBM) (Friedman *et al.*, 2009, J. Clin. Oncol. 27: 4733-4740). El tratamiento habitual actual para los pacientes con glioblastoma recién diagnosticado es la radiación (60 Gy durante 6 semanas) con temozolomida (TMZ) al mismo tiempo seguida de temozolomida adyuvante (Stupp *et al.*, 2005, N. Engl. J. Med. 352: 987-996), aunque los análisis de subgrupos sugieren que la adición de temozolomida puede no mejorar la eficacia en personas mayores (Laperriere *et al.*, 2013, Cancer Treat. Rev. 39: 350-357).

Este ejemplo describe un estudio de fase 3 para evaluar la eficacia de un anticuerpo anti-PD-1 en combinación con radioterapia hipofraccionada (hfRT) frente al tratamiento habitual (SOC) en términos de supervivencia general en pacientes ≥ 65 años con nGBM.

El anticuerpo anti-PD-1 ilustrativo utilizado en este estudio es REGN2810 (también conocido como H4H7798N como se divulga en el documento US20150203579), un anticuerpo anti-PD-1 monoclonal completamente humano que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; un par de secuencias de aminoácidos HCVR/LCVR que comprende las SEQ ID NO: 1/2; y secuencias CDR de cadena pesada y ligera que comprenden las SEQ ID NO: 3 a 8.

Objetivos del estudio

El objetivo principal del estudio es evaluar la eficacia en términos de supervivencia general (SG) del REGN2810 administrado en combinación con hfRT frente al tratamiento habitual para pacientes ≥ 65 años con nGBM.

El objetivo secundario del estudio es determinar una mejora en la supervivencia sin progresión (SSP).

Los otros objetivos del estudio son: (i) mejora en la tasa de respuesta objetiva (TRO), duración de la respuesta y duración del control de la enfermedad; (ii) evaluación clínica mediante la escala Neurologic Assessment in Neuro-Oncology (NANO); (iii) seguridad; (iv) mejora de la calidad de vida (CdV) y del estado mental; (v) cambios en el edema y el uso de esteroides; (vi) concentración de REGN2810 en suero y anticuerpos anti-REGN2810; y (vii) explorar posibles biomarcadores farmacodinámicos, predictivos o pronósticos.

Diseño del estudio

Este es un estudio de fase 3 aleatorizado 2:1 de REGN2810, un anticuerpo completamente humano contra PD-1, combinado con radioterapia hipofraccionada frente al tratamiento habitual en pacientes ≥ 65 años con glioblastoma recién diagnosticado. Los pacientes se asignan al azar a REGN2810 en combinación con radioterapia hipofraccionada frente al tratamiento habitual en una proporción 2:1 con el estado de metilación (metilado frente a no metilado frente a indeterminado) y la extensión de la resección (resección parcial frente a total macroscópica) como factores de estratificación. La eficacia se evalúa mediante la supervivencia general.

Los pacientes con nGBM que son candidatos a radioterapia se asignan al azar en una proporción 2:1 para recibir uno de los siguientes tratamientos:

- Terapia de investigación: REGN2810 i.v. 3 mg/kg (cada 2 semanas) más RT hipofraccionada (6 Gy \times 5, solo la segunda semana). La radioterapia se proporciona en la semana 2 del ciclo 1, pero no en ciclos posteriores.
- Terapia de comparación: tratamiento habitual con TMZ (oral, 75 mg/m², diario) en combinación con RT habitual (5

fracciones de radiación diarias/semana de 2 Gy) durante 6 semanas, seguido de adyuvante TMZ (oral, 150 mg/m² a 200 mg/m² 5 días/28 días) durante 6 ciclos. La radioterapia se proporciona solo en el primer ciclo de 6 semanas.

Duración del estudio

El estudio consta de un período de selección de 28 días, después de lo cual, los pacientes elegibles pueden tener hasta doce ciclos de tratamiento de 56 días (8 semanas) para un total de hasta 96 semanas de tratamiento. Durante el período de selección (día -28 al día -1), todos los pacientes elegibles deben tener disponible una resección tumoral previa al tratamiento (resección parcial o total) o una biopsia para la confirmación de la patología central y la

determinación y confirmación de la metilación de MGMT. Después del día 1/inicio del estudio, los pacientes regresan a la clínica durante el ciclo 1 los días 8 ± 3, 15 ± 3, 29 ± 3, 43 ± 3 y 56 ± 3. Para cada ciclo subsiguiente de 8 semanas (ciclos 2 a 12), los pacientes regresan a la clínica los días 1, 15 ± 3, 29 ± 3, 43 ± 3 y 56 ± 3. Las evaluaciones de tumores (MRI cerebral, evaluaciones iRANO y NANO, cuestionarios MMSE y EORTC QLQ-C30/BN20) se realizan el día 1/inicio del estudio y al final de cada ciclo de tratamiento. Se realizan evaluaciones de seguridad exhaustivas el día 1 de cada ciclo; se realizarán evaluaciones de seguridad de rutina en cada visita. También se recogen muestras para la evaluación de biomarcadores (celulares y moleculares, descritos en el presente documento) relacionados con la exposición al tratamiento con REGN2810, la actividad clínica o la enfermedad subyacente.

Durante el período de seguimiento de 24 semanas, los pacientes regresan a la clínica de 21 a 42 días después del último tratamiento del estudio para la primera visita de seguimiento. Las visitas de seguimiento posteriores (visita de seguimiento 2 a visita de seguimiento 7) se realizan cada 28 días ± 7 días. Las evaluaciones de tumores (MRI cerebral, evaluaciones iRANO y NANO, cuestionarios MMSE y EORTC QLQ-C30/BN20) se realizan en la visita de seguimiento 3, visita de seguimiento 5 y visita de seguimiento 7. Se realizan extensas evaluaciones de seguridad durante la primera visita de seguimiento; se llevarán a cabo evaluaciones de seguridad de rutina en las visitas de seguimiento posteriores. Se recogen muestras para la evaluación de biomarcadores (celulares y moleculares, descritos en el presente documento) relacionados con la exposición al tratamiento con REGN2810, la actividad clínica o la enfermedad subyacente.

Población diana

La población diana comprende pacientes ≥65 años con nGBM.

Criterios de inclusión: Un paciente debe cumplir los siguientes criterios para ser elegible para su inclusión en el estudio: (1) glioblastoma primario recién diagnosticado con confirmación histológica, ≤5 cm de diámetro máximo, que ha tenido una resección quirúrgica parcial o completa; (2) Estado general del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 0 a 2; (3) ≥65 años de edad; (4) Función hepática: a) Bilirrubina total ≤15 veces el límite superior de la normalidad; (b) ALT y AST ≤3 veces el LSN; (c) Fosfatasa alcalina (ALP) ≤25 veces el LSN; (5) Función renal: Creatinina sérica ≤1,5 veces el LSN; (6) Función de la médula ósea: Hemoglobina ≥9,0 g/dl; Recuento absoluto de neutrófilos (RAN) ≥1,5×10⁹/l; Recuento de plaquetas ≥75 ×10⁹/l; (7) Capaz de leer, comprender y estar dispuesto a firmar el consentimiento informado; y (8) capacidad y voluntad de cumplir con las visitas programadas, los planes de tratamiento, las pruebas de laboratorio y otros procedimientos relacionados con el estudio.

Criterios de exclusión: Un paciente que cumpla cualquiera de los siguientes criterios será excluido del estudio: (1) Cualquier tratamiento previo para GBM (que no sea cirugía); (2) Tener una contraindicación conocida para Gd-MRI; (3) Evidencia actual o reciente (en los últimos 5 años) de enfermedad autoinmunitaria significativa que requirió tratamiento con tratamientos inmunodepresores sistémicos, lo que puede sugerir un riesgo de acontecimientos adversos relacionados con el sistema inmunitario (AAri). Los siguientes no son excluyentes: vitiligo, asma infantil que se ha resuelto, hipotiroidismo residual que solo requiere reemplazo hormonal, o psoriasis que no requiere tratamiento sistémico. (4) Tratamiento continuo con corticosteroides sistémicos, con la excepción del uso de corticosteroides para otras indicaciones (no tumorales y no inmunosupresoras) hasta un máximo de 10 mg/día de prednisona o equivalente. (5) Tumores primarios ubicados en el tronco encefálico, médula espinal o cualquier infección activa de tumor cerebral secundario que requiera tratamiento, incluida la infección conocida por el virus de la inmunodeficiencia humana o la infección activa por el virus de la hepatitis B o la hepatitis C. (6) Antecedentes de neumonitis en los últimos 5 años. (7) Cualquier tratamiento de investigación o antitumoral en los 30 días anteriores de la administración inicial de REGN2810. (8) Antecedentes de reacciones alérgicas documentadas o reacciones de hipersensibilidad aguda atribuidas al tratamiento con terapias con anticuerpos en general, o a agentes utilizados de manera específica en el estudio. (9) Hipertensión controlada de manera inadecuada (definida como presión arterial sistólica >150 mm Hg y/o presión arterial diastólica >100 mm Hg) (10) Alergia conocida a la doxiciclina o a la tetraciclina. (Precaución debido a la presencia de componentes insignificantes en REGN2810.) (11) Historia previa de crisis hipertensiva o encefalopatía hipertensiva (12) Historia dentro de los últimos 5 años de una neoplasia maligna invasiva diferente a la tratada en este estudio, con la excepción de carcinoma basocelular o espinocelular reseccionado/extirpado o carcinoma *in situ* del cuello uterino u otros tumores locales considerados curados con tratamiento local. (13) Problemas psiquiátricos agudos o crónicos que, según la evaluación del investigador, hacen que el paciente no sea elegible para participar (14) Uso de los campos de tratamiento de tumores Novocure (dispositivo Optune NovoTTF-100A) en la selección. Uso planificado

o anticipado de los campos de tratamiento de tumores Novocure durante la participación en el estudio (15) Tratamiento previo con obleas de carmustina (16) Actividad sexual continua en hombres que no están dispuestos a practicar la anticoncepción adecuada durante el estudio.

5 Tratamientos del estudio

Los pacientes reciben uno de los siguientes regímenes de tratamiento:

Terapia de investigación: REGN2810 3 mg/kg (administrado en infusión i.v. durante 30 minutos cada 2 semanas durante un máximo de 96 semanas) más hfRT en la semana 2 del ciclo 1

10 Comparativo: tratamiento habitual con TMZ (oral, 75 mg/m², diario) en combinación con RT habitual (5 fracciones de radiación diarias/semana de 2 Gy) durante 6 semanas, seguido de adyuvante TMZ (oral, 150 mg/m² a 200 mg/m² 5 días/28 días) durante 6 ciclos. La radioterapia se proporciona solo en el primer ciclo.

15 REGN2810 se suministra como un líquido en frascos estériles de un solo uso. Cada frasco contiene un volumen suficiente para extraer 10 ml de REGN2810 a una concentración de 25 mg/ml. REGN2810 se administra como una infusión i.v. de 30 minutos. La dosis de cada paciente dependerá del peso corporal individual. La dosis de REGN2810 debe ajustarse en cada ciclo para cambios en el peso corporal de $\geq 10\%$.

20 Radioterapia: Los pacientes del grupo de control reciben radioterapia habitual (60 Gy durante 6 semanas). Los pacientes del grupo de tratamiento experimental reciben hfRT (6 Gy \times 5 fracciones diarias) administrada 1 semana después de la primera dosis de REGN2810.

25 REGN2810 más radiación (tratamiento en investigación): REGN2810 se administrará mediante infusión i.v. durante 30 minutos cada 14 días durante 96 semanas en combinación con hfRT desde el día 8 hasta el día 12.

Régimen de combinación planificada de REGN2810 y hfRT: Infusión de REGN2810 de 3 mg/kg durante 30 minutos cada 14 días durante 96 semanas más radioterapia (hfRT a 6 Gy \times 5 fracciones diarias; administrada 1 semana después de la primera dosis de REGN2810, preferentemente en días consecutivos).

30 Especificaciones para la radioterapia: Los pacientes reciben 30 Gy administrados como 5 fracciones de 6 Gy administrados diariamente comenzando 1 semana después de la primera dosis de REGN2810.

35 Grupo comparador: Tratamiento habitual: TMZ (oral, 75 mg/m², diariamente) en combinación con RT habitual (5 fracciones de radiación diarias/semana de 2 Gy) durante 6 semanas, seguido de adyuvante TMZ oral. La dosis de TMZ es de 150 mg/m² durante los primeros 5 días del primer ciclo de adyuvante, y aumenta a 200 mg/m² durante 5 días/28 días comenzando con el segundo ciclo si no hay toxicidades hemáticas inaceptables con el primer ciclo adyuvante.

40 Si, durante el primer ciclo adyuvante, todas las toxicidades no hemáticas observadas son de grado ≤ 2 (excepto alopecia, náuseas y vómitos) y las plaquetas son $\geq 100 \times 10^9/l$ y RAN $\geq 1,5 \times 10^9/l$, entonces la dosis de TMZ debe aumentarse al nivel de dosis 1 (200 mg/m²) y esta dosis debe utilizarse como dosis inicial para los ciclos posteriores. Si después del ciclo 1 se debe retrasar la TMZ debido a toxicidades no hemáticas en curso de grado ≥ 2 , entonces no es posible una escalada. Si la dosis no se incrementó en el segundo ciclo, entonces la dosis no debe aumentarse en
45 ciclos posteriores.

Tratamientos para el edema del SNC: A cualquier paciente que desarrolle edema intracraneal sintomático durante el estudio se le debe suspender la dosis de REGN2810 y la radioterapia hasta que desaparezca el edema.

50 Para pacientes que desarrollan edema intracraneal, se administra bevacizumab i.v., según sea necesario (a demanda), a una dosis reducida de la habitual (dosis sugerida de 5 mg/kg Q2W hasta 3 dosis, no más de 10 mg/kg Q2W por dosis), a menos que esté contraindicado (por ejemplo, a menos que el paciente se haya sometido a cirugía en los últimos 28 días).

55 Si bevacizumab no resuelve el edema intracraneal, se pueden administrar corticosteroides sistémicos, además o como reemplazo de bevacizumab, a la dosis más baja que sea adecuada para el manejo de los síntomas. Para los pacientes que son intolerantes al bevacizumab, los corticosteroides se utilizan en una dosis que sea apropiada para el tratamiento de los síntomas.

60 Variables del estudio

El criterio de valoración principal de la eficacia es la supervivencia general (SG), que se define como el intervalo de tiempo desde la fecha de aleatorización hasta la fecha de muerte por cualquier causa.

65 El criterio de valoración secundario clave es la supervivencia sin progresión (SSP), que se define como el intervalo de tiempo desde la fecha de la aleatorización hasta la fecha de la primera observación de la progresión de la enfermedad

o la fecha de la muerte (por cualquier causa). La progresión de la enfermedad está determinada por los criterios de iRANO.

Los otros criterios de valoración secundarios de la eficacia son:

- 5 Tasa de respuesta objetiva (TRO): definida como la proporción de pacientes con respuesta completa (RC) confirmada o respuesta parcial (RP) confirmada, definidas por los criterios de evaluación de la respuesta de inmunoterapia en neurooncología (iRANO, del inglés "Immunotherapy Response Assessment in Neuro-Oncology") en relación con el número total de pacientes en la población de prueba.
- 10 Duración de la respuesta: determinado para los pacientes con la mejor respuesta general de RC o RP. La duración de la respuesta se mide desde el momento en que se cumplen los criterios de medición para RC/RP (lo que se registre primero) hasta la primera fecha de la enfermedad recurrente o progresiva (radiográfica) o la muerte por cualquier causa.
- 15 Duración del control de la enfermedad: determinada para los pacientes con mejor respuesta general de EE, RC o RP. La duración del control de la enfermedad se mide desde el inicio del tratamiento hasta la primera fecha de la enfermedad recurrente o progresiva (radiográfica) o la muerte por cualquier causa.

Variables de calidad de vida y control de síntomas: Las variables de calidad de vida y control de síntomas son:

- 20
 - Cinco escalas funcionales, tres escalas de síntomas, una medida general del estado de salud y seis escalas de un solo elemento que evalúan los síntomas utilizando los cuestionarios EORTC QLQ-C30 durante el estudio
 - Cuatro escalas y siete elementos individuales utilizando los cuestionarios EORTC QLQ-BN20 durante el estudio
 - Evaluación clínica mediante NANO;
- 25
 - La puntuación total del MMSE durante el estudio
 - Uso de corticosteroides al inicio del estudio, uso acumulativo de corticosteroides durante el estudio y duración del uso sin esteroides o de esteroides en dosis bajas durante el período sin progresión del estudio
 - Uso de bevacizumab a demanda al inicio del estudio, bevacizumab acumulativo a demanda durante el estudio, y la duración del período sin bevacizumab durante el período sin progresión del estudio

Variables exploratorias de biomarcadores: Otro criterio de valoración incluye biomarcadores farmacodinámicos, pronósticos y predictivos relacionados con la respuesta clínica, el mecanismo de acción y los posibles AA asociados con REGN2810 después del tratamiento.

Las variables de biomarcadores incluyen:

- 35
 - Niveles de expresión de los receptores de puntos de control inmunitarios PD-L1, GITR y LAG3, así como otros posibles biomarcadores (*por ejemplo*, EGFRvIII, Ki67, etc.) en muestras de tumores;
 - Número y distribución de TIL en muestras de tumores;
 - Estado mutacional de IDH1, inestabilidad de microsatélites (MSI) y carga mutacional en muestras de tumores;
- 40
 - Biomarcadores en circulación que incluyen citocinas y factores angiogénicos;
 - Subconjuntos celulares y niveles de expresión de biomarcadores de interés en PBMC;
 - Estado de metilación del promotor MGMT (también utilizado para estratificación)

Otras variables incluyen la concentración de REGN2810 en suero (variables farmacocinéticas) y el desarrollo de anticuerpos anti-REGN2810.

Procedimientos y Evaluaciones

Después de un periodo de selección de hasta 28 días, los pacientes reciben hasta doce ciclos de tratamiento de 56 días para un total de hasta 96 semanas de tratamiento, seguido de un período de seguimiento de 24 semanas. Se realizan análisis de eficacia, seguridad, FC, ADA y de biomarcadores exploratorios.

Procedimientos de la eficacia

- 55 MRI: Se realiza una MRI para la evaluación del tumor 72 horas después de la cirugía, en la visita de selección (dentro de los 28 días anteriores a la infusión), en el día 56 ± 3 de cada ciclo (aproximadamente cada 8 semanas) y cuando se sospecha de PE. A los pacientes en los que la enfermedad no ha progresado se les realizan evaluaciones tumorales adicionales en las visitas de seguimiento 3, 5 y 7. Nota: si se ha confirmado la PE, no se requerirán exploraciones adicionales durante las visitas de seguimiento. Si se realizaron MRI antes y después de la cirugía antes de la inscripción en el estudio, esas exploraciones también deben enviarse al estudio para ayudar a determinar el volumen del tumor y la progresión del tumor.
- 60

La evaluación de la respuesta tumoral se realiza de acuerdo con iRANO; y NANO realizará una evaluación clínica neurológica. Las evaluaciones de acuerdo con RANO también se realizan como exploración de apoyo; sin embargo, la determinación principal de la progresión de la enfermedad para un paciente individual se realizará de acuerdo con los iRANO.

- 65

El cuestionario de calidad de vida de la Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento del Cáncer (EORTC QLQ-C30) y el cuestionario del módulo de cáncer de cerebro de la EORTC (EORTC QLQ-BN20): El EORTC QLQ-C30 es un cuestionario de 30 elementos que evalúa la calidad de vida relacionada con la salud (CVRS) en

- 5 pacientes con cáncer con 15 escalas (unielemento o multielemento), cada uno con posibles puntuaciones que varían de 0 a 100. De los 30 elementos, 24 se añaden en 9 escalas de varios elementos que representan varias dimensiones de la CVRS: 5 escalas de funcionamiento (física, de función, emocional, cognitiva y social), 3 escalas de síntomas (cansancio, dolor y náuseas) y una medida general del estado de salud. Las 6 escalas restantes de un solo elemento evalúan los síntomas: disnea, pérdida de apetito, alteración del sueño, estreñimiento y diarrea, y el impacto financiero
- 10 percibido del tratamiento de la enfermedad. Las puntuaciones elevadas indican una mejor CVRS para la medida general del estado de salud y las escalas de funcionamiento, y una peor CVRS para las escalas de síntomas.

- La EORTC QLQ-BN20 es una evaluación de calidad de vida de 20 elementos específica para neoplasias cerebrales y está destinada a complementar la EORTC QLQ-C30 al evaluar la calidad de vida relacionada con la salud. El
- 15 cuestionario EORTC QLQ-BN20 evalúa los síntomas de la enfermedad, los efectos secundarios del tratamiento y algunos problemas psicosociales específicos de importancia para los pacientes con cáncer de cerebro utilizando 4 escalas (que evalúan la incertidumbre futura, el trastorno visual, la disfunción motora y el déficit de comunicación) y 7 elementos individuales (evaluación de otros síntomas de enfermedad [por ejemplo, dolores de cabeza y convulsiones] y efectos tóxicos del tratamiento [por ejemplo, alopecia]). Las posibles puntuaciones oscilan entre 0 y 100; las
- 20 puntuaciones elevadas indican una peor CVRS.

- Minievaluación del estado mental: El minexamen del estado mental (MMSE©) es una medida breve y cuantitativa del estado cognitivo en adultos. Se puede utilizar para detectar deterioro cognitivo, para estimar la intensidad del deterioro cognitivo en un momento dado y para seguir el curso de los cambios cognitivos en un individuo a lo largo del tiempo.
- 25 En este estudio, la puntuación MMSE es parte del examen neurológico realizado en el contexto de las evaluaciones de la enfermedad.

- El MMSE se realiza el día 1/situación inicial, al final de cada ciclo de tratamiento y cada 8 semanas durante el período de seguimiento. Las evaluaciones del MMSE coinciden con el cronograma de evaluaciones de enfermedades, pero
- 30 deben completarse antes de anunciar al paciente el resultado de la evaluación radiológica. El MMSE puede completarse al comienzo de la siguiente administración de tratamiento programada. Durante el período de seguimiento de supervivencia, el MMSE debe continuar completándose en cada segunda visita de supervivencia (cada 8 semanas) si el paciente aún no ha progresado.

- 35 La puntuación total del MMSE tiene un posible intervalo de 0 (peor) a 30 (mejor).

Procedimientos de seguridad

- 40 En el ciclo 1 día 1 y en todos los días de tratamiento posteriores, se recogerán las constantes vitales, incluyendo la temperatura, presión arterial en reposo, pulso y respiración, junto con el peso, antes de la infusión y aproximadamente 15 minutos después de completar la infusión. Se realiza un examen físico completo y un ECG de 12 derivaciones al comienzo de cada ciclo.

Procedimientos exploratorios de biomarcadores tumorales

- 45 Los biomarcadores de interés que se analizan mediante inmunohistoquímica (IHC) incluyen, pero sin limitación, EGFRvIII y biomarcadores de proliferación celular (por ejemplo, Ki67). Los niveles de expresión (ARNm y/o proteína) de PD-L1, GTR y LAG-3, así como marcadores de linaje de linfocitos infiltrantes de tumores (CD4, CD8, CD25, FoxP3) se analizan en muestras de biopsia de tumor para explorar el posible efecto de REGN2810.

- 50 Las muestras de tejido tumoral pueden utilizarse para la extracción de ADN y ARN tumorales y análisis posteriores de posibles biomarcadores genéticos relevantes para estudiar el tratamiento y el glioblastoma. Se recoge una muestra de sangre para el aislamiento del ADN de la línea germinal el día 1/situación inicial (antes de la dosis), o en cualquier visita del estudio, si la recogida el día 1/situación inicial no es posible. Los análisis del ADN tumoral incluyen (pero sin limitación) el estado de metilación del promotor MGMT, el estado mutacional IDH1, la inestabilidad de microsatélites (MSI) y la carga de mutación tumoral (que puede predecir la respuesta al REGN2810 y otros agentes
- 55 inmunoterapéuticos). Se realizan análisis de variantes genéticas en el ADN tumoral (somático) y el ADN de la línea germinal que pueden afectar la progresión de la enfermedad, la respuesta al fármaco y las posibles toxicidades. El ADN de la línea germinal también se utiliza para compararlo con el ADN tumoral para explorar posibles variantes
- 60 genéticas novedosas que subyacen a los procesos malignos.

Resultados

- 65 REGN2810 en combinación con hfRT es seguro y bien tolerado por pacientes con nGBM. La administración de REGN2810 en combinación con hfRT inhibe el crecimiento tumoral y/o promueve la regresión tumoral en pacientes con nGBM en comparación con la terapia de tratamiento habitual. Los pacientes con nGBM tratados con REGN2810

y hfRT muestran una SG más prolongada en comparación con el tratamiento habitual.

Ejemplo 11: Ensayo clínico de REGN2810 en pacientes con carcinoma espinocelular avanzado

- 5 Este ejemplo describe un ensayo de fase 2 que se llevó a cabo para confirmar los resultados positivos observados en pacientes con CSCC avanzado en un ensayo de fase 1 (véanse los ejemplos 7, 8 y 9 en el presente documento)

Objetivos del estudio

- 10 El objetivo principal de este estudio es estimar el beneficio clínico de REGN2810 en monoterapia para pacientes con carcinoma espinocelular metastásico (ganglionar o distante) (Grupo 1) o con CSCC localmente avanzado irresecable (Grupo 2), medido mediante tasa de respuesta general (TRG).

- 15 Los objetivos secundarios del estudio son: (i) estimar la TRG; (ii) estimar la duración de la respuesta, la supervivencia sin progresión (SSP) y la supervivencia general (SG); (iii) estimar la tasa de respuesta completa (RC); (iv) evaluar la seguridad y tolerabilidad de REGN2810; (v) evaluar la farmacocinética (FC) de REGN2810; (b) evaluar la inmunogenia de REGN2810; y (vii) evaluar el impacto de REGN2810 en la calidad de vida utilizando EORTC QLQ-C30.

Diseño del estudio

- 20 Este es un estudio no aleatorizado, de fase 2, multicéntrico de 2 grupos de REGN2810 a una dosis de 3 mg/kg administrada por vía intravenosa (i.v.) cada 2 semanas para pacientes con CSCC avanzado. El estudio tiene 2 grupos. El grupo 1 es para pacientes con CSCC metastásico. El grupo 2 es para pacientes con CSCC localmente avanzado irresecable. Todos los pacientes se someten a procedimientos de selección para determinar la elegibilidad dentro de los 28 días anteriores a la administración inicial de REGN2810.

- 30 Después de un periodo de selección de hasta 28 días, los pacientes reciben hasta doce ciclos de tratamiento de 56 días (8 semanas) durante un máximo de 96 semanas de tratamiento. Cada paciente recibe REGN2810 i.v. 3 mg/kg los días 1, 15 ± 3, 29 ± 3 y 43 ± 3 durante cada ciclo de tratamiento. Las evaluaciones de los tumores se realizan al final de cada ciclo de tratamiento. Se realizan extensas evaluaciones de seguridad el día 1 de cada ciclo, con evaluaciones de seguridad de rutina que se realizarán en cada visita de dosificación de REGN2810.

- 35 Un paciente recibe tratamiento hasta que se complete el período de tratamiento de 96 semanas, o hasta la progresión de la enfermedad, toxicidad inaceptable, retirada del consentimiento o RC confirmada. Los pacientes con RC confirmada después de un mínimo de 48 semanas de tratamiento pueden optar por interrumpir el tratamiento y continuar con todas las evaluaciones relevantes del estudio (por ejemplo, evaluaciones de eficacia).

Duración del estudio

- 40 Selección (hasta 4 semanas), hasta 96 semanas de tratamiento y hasta 6 meses de seguimiento.

Población del estudio

- 45 Pacientes con CSCC metastásico o con CSCC localmente avanzado irresecable

Tratamiento del estudio

REGN2810 3 mg/kg administrados i.v. durante 30 minutos cada 14 días durante 96 semanas

Variables del estudio

- 50 El criterio de valoración principal de la eficacia de este estudio es la TRG durante los 12 ciclos de tratamiento. La tasa de respuesta general se evalúa por separado para los pacientes con CSCC metastásico o CSCC localmente avanzado irresecable: Para los pacientes del grupo 1, se utilizan los criterios de evaluación de la respuesta en tumores sólidos (RECIST) versión 1.1 para determinar la TRG. • Para pacientes del grupo 2, se utilizan los criterios de respuesta compuesta para determinar la TRG. En pacientes que logran una RC, las biopsias tumorales se utilizan en la determinación final de la respuesta completa frente a la respuesta parcial (RP).

- 60 Las medidas de resultado de eficacia secundarias son: duración de la respuesta; duración del control de enfermedades; SSP; SG; tasa de RC; cambio en las puntuaciones de los resultados informados por los pacientes en EORTC QLQ-C30; acontecimientos adversos (AA); concentraciones de REGN2810 en suero; y anticuerpos anti-REGN2810.

Procedimientos y Evaluaciones

- 65 Se realizan tomas de imágenes tumorales (tomografía computarizada [TC] o imágenes por resonancia magnética

[MRI]) y fotografías médicas digitales (para lesiones visibles de manera externa) para medir la carga tumoral y caracterizar el perfil de eficacia de los tratamientos del estudio utilizando criterios de respuesta.

Se realizan examen físico, pruebas de laboratorio, constantes vitales, electrocardiograma (ECG) y pruebas de embarazo para mujeres en edad fértil y se registran los AA y los medicamentos simultáneos para garantizar la seguridad del paciente y caracterizar los perfiles de seguridad de los tratamientos del estudio.

Otras evaluaciones incluyen: Muestras de sangre periférica para FC; Muestras de sangre periférica para evaluar anticuerpos anti-REGN2810; Biopsias de tumores; y evaluaciones de la calidad de vida.

Resultados

El ensayo está completo y los resultados hasta la fecha están en línea con los resultados de la fase I (descritos en el presente documento en los ejemplos 7, 8 y 9) con pacientes que muestran inhibición del crecimiento tumoral tras la administración de REGN2810. Los pacientes con CSCC metastásico que se han tratado con terapias previas y no son susceptibles de cirugía muestran una respuesta completa, respuesta parcial o enfermedad estable en tratamiento con el anticuerpo anti-PD-1 REGN2810.

Ejemplo 12: Ensayo clínico de REGN2810 en pacientes con carcinoma basocelular avanzado

Se realizó un ensayo de fase 2 para confirmar los resultados positivos observados en pacientes con BCC avanzado en un ensayo de fase 1 (véanse los ejemplos 7 y 8 en el presente documento).

Objetivos del estudio

El objetivo principal del estudio es estimar la tasa de respuesta general (TRG) para el carcinoma basocelular (BCC) metastásico (Grupo I) o el BCC localmente avanzado irreseccable (Grupo II), cuando se trata con REGN2810 en monoterapia en pacientes que han progresado con el inhibidor de la vía de Hedgehog (HHI) o que no toleraron la terapia anterior con HHI.

Los objetivos secundarios tanto para el grupo I como para el grupo II son: (i) estimar la TRG de acuerdo con la revisión del investigador; (ii) estimar la duración de la respuesta, la supervivencia sin progresión (SSP) y la supervivencia general (SG); (iii) estimar la tasa de respuesta completa (RC); (iv) evaluar la seguridad y tolerabilidad de REGN2810; (v) evaluar la farmacocinética (FC) de REGN2810; (vi) evaluar la inmunogenia de REGN2810; y (vii) evaluar el impacto de REGN2810 en la calidad de vida utilizando el cuestionario de calidad de vida de la Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento del Cáncer Core 30 (EORTC QLQ-C30) y Skindex-16.

Diseño del estudio

Este es un estudio no aleatorizado, de fase 2 de 2 grupos, multicéntrico de REGN2810 a una dosis de 350 mg administrada por vía intravenosa (i.v.) cada 3 semanas (Q3W) en pacientes con BCC avanzado que experimentaron una progresión de la enfermedad con la terapia HHI, o que fueron intolerantes a la terapia HHI anterior. El estudio tiene 2 grupos. El grupo 1 es para pacientes con BCC metastásico. El grupo 2 es para pacientes con BCC localmente avanzado irreseccable. Todos los pacientes se someten a procedimientos de selección para determinar la elegibilidad dentro de los 28 días anteriores a la administración inicial de REGN2810. No hay aleatorización ni control con placebo.

Después de un periodo de selección de hasta 28 días, los pacientes reciben hasta 93 semanas de tratamiento. Cada paciente recibe una dosis de 350 mg cada tres semanas de REGN2810 i.v. El tiempo de infusión de REGN2810 es de aproximadamente 30 minutos (\pm 10 minutos). Las evaluaciones de los tumores se realizan al final de cada ciclo de tratamiento, 5 ciclos de tratamiento de 9 semanas seguidos de 4 ciclos de tratamiento de 12 semanas). Se realizan extensas evaluaciones de seguridad el día 1 de cada ciclo, con evaluaciones de seguridad de rutina que se realizarán en cada visita de dosificación de REGN2810.

Un paciente recibe tratamiento hasta que se complete el periodo de tratamiento de 93 semanas o hasta la progresión de la enfermedad, toxicidad inaceptable, retirada del consentimiento o RC confirmada. Los pacientes con RC confirmada después de un mínimo de 48 semanas de tratamiento pueden optar por interrumpir el tratamiento y continuar con todas las evaluaciones relevantes del estudio (por ejemplo, evaluaciones de eficacia). Los pacientes que interrumpen el tratamiento del estudio debido a la PE regresan a la clínica 30 días (intervalo: 28 días a 42 días) después del último tratamiento del estudio para completar las evaluaciones de fin de estudio (EOS, del inglés "end-of-study"). Después de la visita de EOS, se realiza un seguimiento de los pacientes para determinar el estado de supervivencia hasta la muerte, la pérdida durante el seguimiento o la terminación del estudio.

Duración del estudio

Después de un periodo de selección de hasta 28 días, los pacientes reciben hasta 93 semanas de tratamiento. Después de la visita de fin de estudio, hay un periodo de seguimiento que consta de periodos de 28 días. Se realiza

un seguimiento de los pacientes para determinar el estado de supervivencia hasta la muerte, la pérdida durante el seguimiento o la terminación del estudio.

Población del estudio

Pacientes con BCC metastásico (Grupo 1) o irresecable localmente avanzado (Grupo 2) que experimentaron progresión de la enfermedad con el tratamiento con HHI o que no toleraron el tratamiento previo con HHI.

Tratamiento del estudio

El tratamiento del estudio comprendió 350 mg de REGN2810 administrados i.v. durante 30 minutos (\pm 10 minutos) una vez cada 3 semanas (Q3W) durante hasta 93 semanas.

Criterios de valoración

El criterio de valoración principal de la eficacia de este estudio es la TRG. La TRG se evalúa por separado para pacientes con BCC metastásico (Grupo 1) o BCC localmente avanzado irresecable (Grupo 2):

- Para los pacientes del grupo 1 (BCC metastásico), se utilizan los criterios de evaluación de la respuesta en tumores sólidos (RECIST) versión 1.1 para determinar la TRG. Los criterios de respuesta clínica pueden utilizarse para pacientes con lesiones diana visibles de manera externa, si RECIST no puede medir todas las lesiones metastásicas (como puede ocurrir en pacientes con metástasis solo óseas).
- Para los pacientes del grupo 2 (BCC localmente avanzado irresecable), se utilizan criterios clínicos para determinar la TRG. Los criterios de respuesta compuesta se utilizan para pacientes con lesiones que se pueden medir tanto por los criterios de respuesta clínica como por RECIST 1.1.

Los criterios de valoración secundarios son: (i) Duración de la respuesta; (ii) SSP; (iii) SG; (iv) tasa de RC; (v) Cambio en las puntuaciones de los resultados informados por los pacientes en el EORTC QLQ-C30 y el Skindex-16; (vi) Acontecimientos adversos (AA); (vii) Concentraciones de REGN2810 en suero; y (viii) Anticuerpos anti-REGN2810.

Procedimientos y Evaluaciones

Se realizan tomas de imágenes tumorales (tomografía computarizada [TC] o imágenes por resonancia magnética [MRI]) y fotografías médicas digitales (para lesiones visibles de manera externa) para medir la carga tumoral y caracterizar el perfil de eficacia de los tratamientos del estudio utilizando criterios de respuesta. Se realizan examen físico, pruebas de laboratorio, constantes vitales, electrocardiograma (ECG) y pruebas de embarazo para mujeres en edad fértil y se registran los AA y los medicamentos simultáneos para garantizar la seguridad del paciente y caracterizar los perfiles de seguridad de los tratamientos del estudio. Otras evaluaciones incluyen muestras de sangre para FC, muestras de sangre para evaluar los anticuerpos anti-REGN2810, biopsias de tumores, biomarcadores y evaluaciones de la calidad de vida.

Resultados

Se espera que, de acuerdo con los resultados de la fase 1 (véanse los ejemplos 7 y 8 en el presente documento), la administración de REGN2810 conduzca a la regresión del tumor en pacientes con carcinoma basocelular avanzado que mostraron progresión de la enfermedad tras el tratamiento con un inhibidor de la vía de Hedgehog (HHI) o fueron intolerantes a la terapia previa con HHI. Los pacientes muestran una respuesta completa, respuesta parcial o enfermedad estable tras el tratamiento con REGN2810.

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une de manera específica a la proteína de muerte programada 1 (PD-1) para su uso en un método para tratar o inhibir el crecimiento de un tumor en un sujeto en combinación con radioterapia, comprendiendo dicho método:
 - (a) seleccionar un sujeto con una primera lesión tumoral y al menos una segunda lesión tumoral distal a la primera lesión tumoral; y
 - (b) administrar al sujeto que lo necesita una combinación de una o más dosis de radioterapia y una o más dosis de una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a PD-1, en donde el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende tres regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3), en donde la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; y LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8; y en donde la radioterapia se administra en la primera lesión tumoral, pero no en la segunda lesión tumoral, y en donde la administración de la combinación produce regresión tumoral tanto en la primera lesión tumoral como en la segunda lesión tumoral.
2. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el método de la reivindicación 1, en donde:
 - (a) cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende entre 0,1-20 mg/kg de peso corporal del sujeto;
 - (b) cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende 0,3, 1, 3, 5 o 10 mg/kg de peso corporal del sujeto; o
 - (c) cada dosis comprende 20-600 mg del anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo.
3. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el método de la reivindicación 1 o 2, en donde cada dosis de radiación comprende 2-80 Gray (Gy), opcionalmente en donde cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende 1, 3, o 10 mg/kg de peso corporal del sujeto y cada dosis de radioterapia comprende 20-50 Gy.
4. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el método de la reivindicación 3, en donde la radioterapia es radioterapia fraccionada, opcionalmente en donde la radioterapia fraccionada comprende 2-10 fracciones.
5. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el método de la reivindicación 4, en donde la radioterapia fraccionada comprende 30 Gy en 5 fracciones o 27 Gy en 3 fracciones.
6. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra 0,5-4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior, opcionalmente en donde cada dosis del anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra 2 semanas después de la dosis inmediatamente anterior.
7. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra antes, simultáneamente o después de la radioterapia, opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra antes de la radioterapia.
8. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde la administración de la combinación produce una eficacia terapéutica mejorada en comparación con la administración del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo o la radiación solos.
9. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el método de la reivindicación 8, en donde la eficacia terapéutica mejorada comprende un efecto seleccionado del grupo que consiste en regresión tumoral, efecto abscópico, inhibición de la metástasis tumoral, reducción de lesiones metastásicas a lo largo del tiempo, uso reducido de agentes quimioterápicos o citotóxicos, reducción de la carga tumoral, aumento de la supervivencia sin progresión, aumento de la supervivencia general, respuesta completa, respuesta parcial y enfermedad estable, opcionalmente, en donde el crecimiento tumoral se inhibe en al menos el 50 % en comparación con un sujeto que recibe bien anticuerpo o radiación solos.
10. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde el sujeto es resistente o responde inadecuadamente a, o recae después de una terapia

previa y/o el cáncer es recurrente o metastásico.

11. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, comprendiendo además dicho método administrar al sujeto un agente terapéutico o terapia adicional, en donde el agente terapéutico o terapia adicional se selecciona del grupo que consiste en cirugía, un agente quimioterápico, una vacuna contra el cáncer, un inhibidor del ligando 1 de muerte programada (PD-L1), un inhibidor del gen de activación de linfocitos 3 (LAG3), un inhibidor de proteína 4 asociada a linfocitos T (CTLA-4), un anticuerpo contra el receptor del factor de necrosis tumoral inducido por glucocorticoides (GITR), un inhibidor de la inmunoglobulina de linfocitos T y que contiene el dominio de mucina 3 (TIM3), un inhibidor del atenuador de linfocitos B y T (BTLA), un inhibidor del inmunorreceptor de linfocitos T con dominios Ig e ITIM (TIGIT), un inhibidor de CD47, un inhibidor de la indolamina-2,3-dioxigenasa (IDO), un anticuerpo biespecífico anti-CD3/anti-CD20, un antagonista del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), un inhibidor de la angiopoyetina-2 (Ang2), un inhibidor del factor de crecimiento transformante β (TGF β), un inhibidor de CD38, un inhibidor del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), ciclofosfamida, un anticuerpo contra un antígeno específico de tumores, vacuna contra el bacilo de Calmette-Guerin, una citotoxina, un inhibidor del receptor de interleucina 6 (IL-6R), un inhibidor del receptor de interleucina 4 (IL-4R), un inhibidor de la IL-10, IL-2, IL-7, IL-21, IL-15, un conjugado de anticuerpo y fármaco, un medicamento antiinflamatorio y un suplemento dietético, opcionalmente, en donde:

- (a) el agente terapéutico adicional es un anticuerpo anti-GITR;
- (b) el agente terapéutico adicional es ciclofosfamida
- (c) el agente terapéutico adicional es GM-CSF; o
- (d) el agente terapéutico adicional se selecciona del grupo formado por docetaxel, carboplatino, paclitaxel, cisplatino, gemcitabina y pemetrexed.

12. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra por vía intravenosa, subcutánea o intraperitoneal.

13. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el cáncer comprende un tumor sólido, opcionalmente en donde:

- (a) el tumor sólido se selecciona del grupo que consiste en cáncer colorrectal, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de cerebro, cáncer de cuello uterino, cáncer de vejiga, cáncer de ano, cáncer de útero, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, cáncer de endometrio, cáncer de huesos, cáncer testicular, cáncer de piel, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cáncer de esófago, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de glándulas salivales y mieloma; o
- (b) el tumor sólido se selecciona del grupo que consiste en carcinoma hepatocelular, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer epidermoide de cabeza y cuello, carcinoma basocelular, carcinoma de mama, carcinoma espinocelular, condrosarcoma, angiosarcoma, colangiocarcinoma, sarcoma de tejidos blandos, cáncer colorrectal, melanoma, carcinoma de células de Merkel y glioblastoma multiforme.

14. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en donde la región variable de cadena pesada (HCVR) comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y la región variable de cadena ligera (LCVR) comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.

15. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en donde:

- (a) el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena pesada (HCVR) con al menos el 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1 y/o el anticuerpo anti-PD-1 comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) con al menos el 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 2;
- (b) el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y/o una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; o
- (c) el anticuerpo anti-PD-1 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y/o una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.

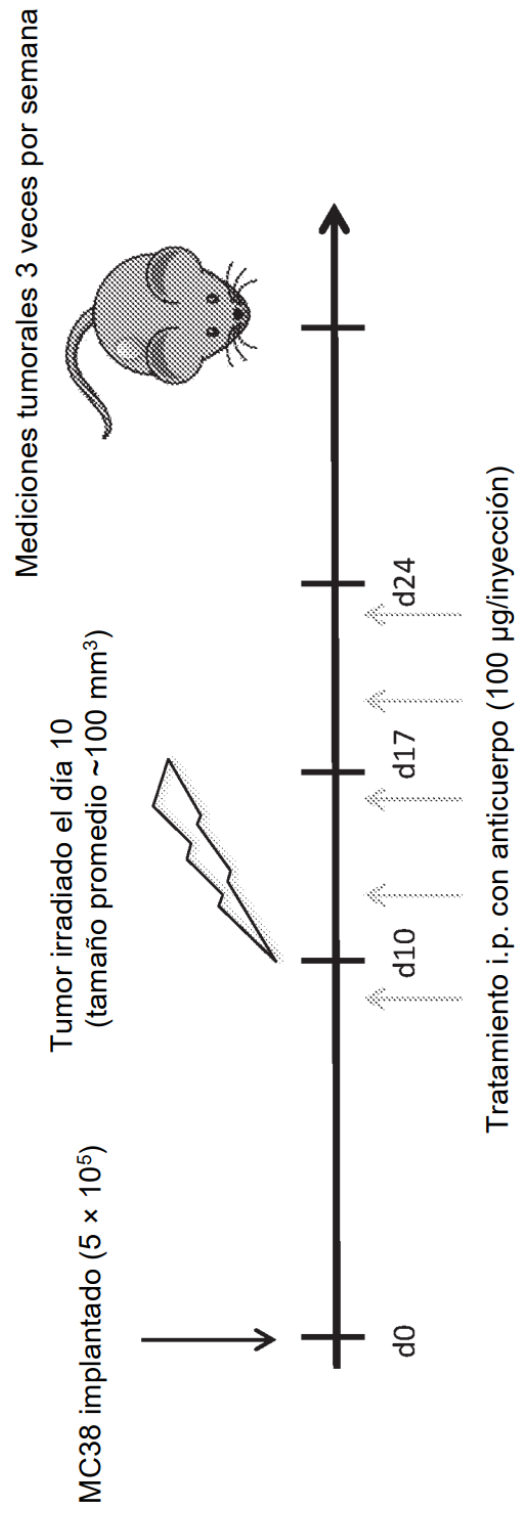


Figura 1

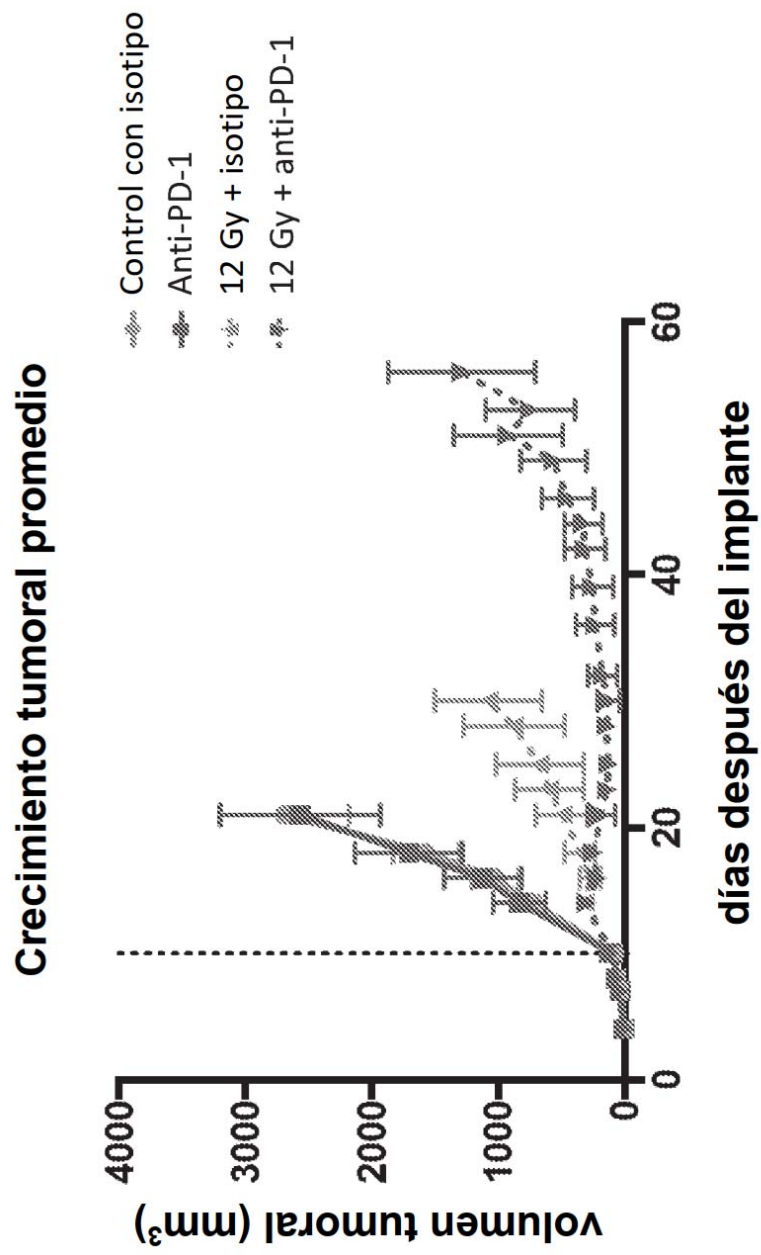


Figura 2

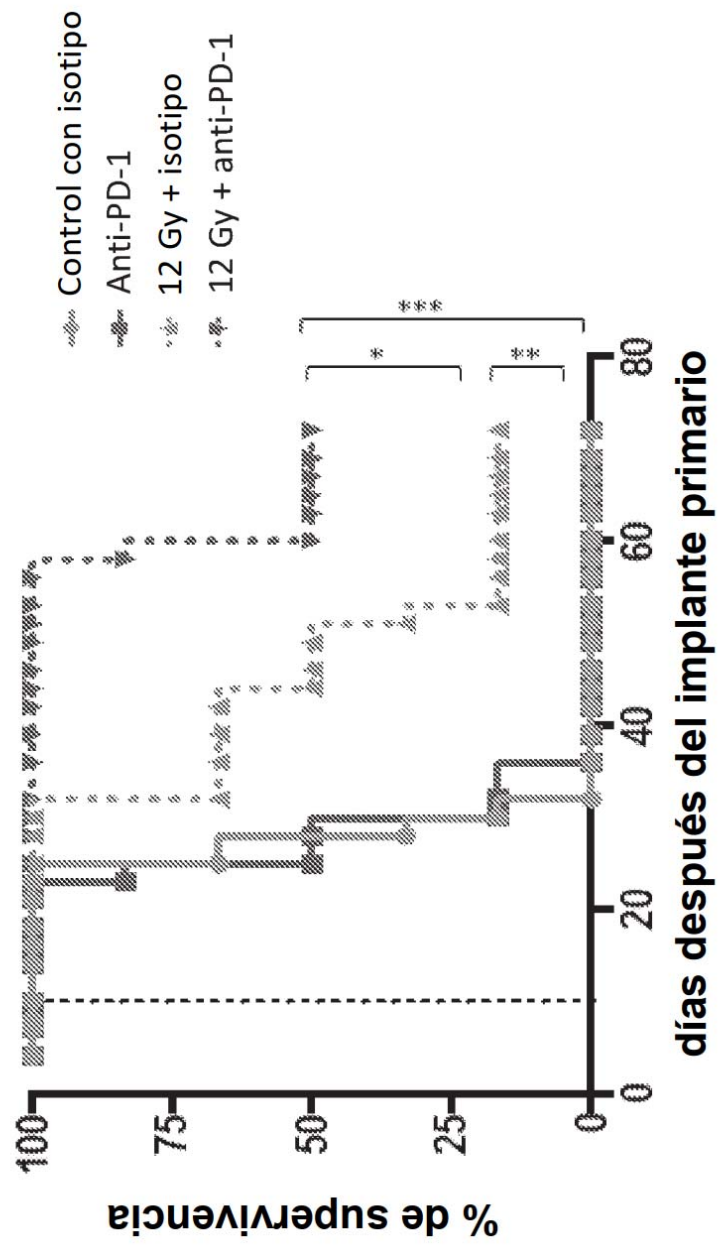


Figura 3

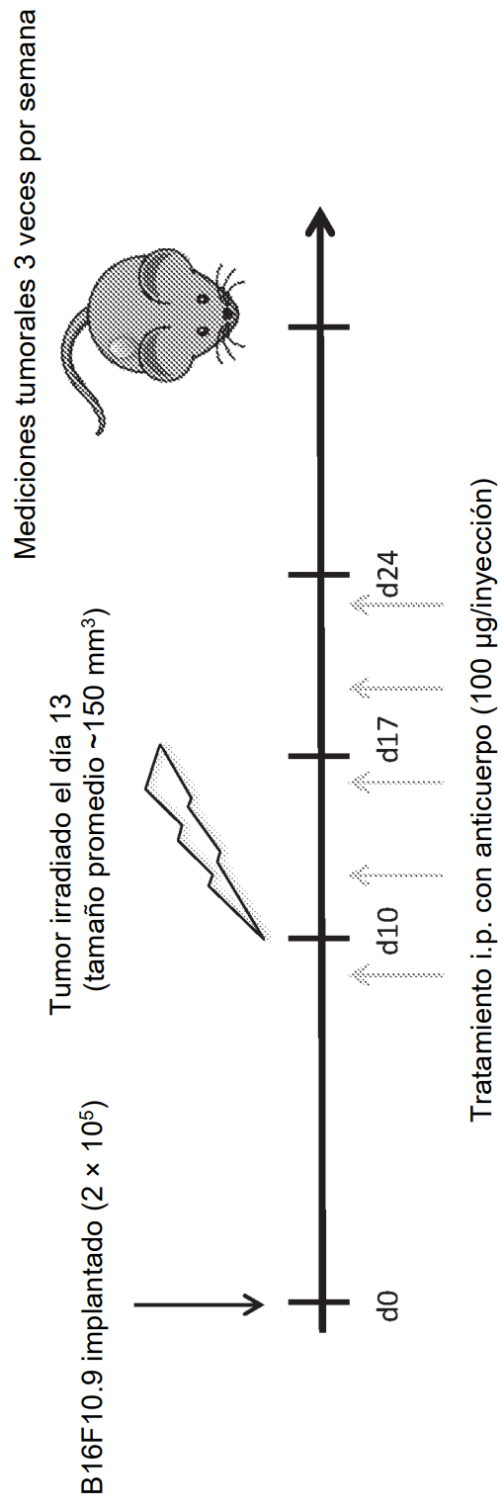


Figura 4

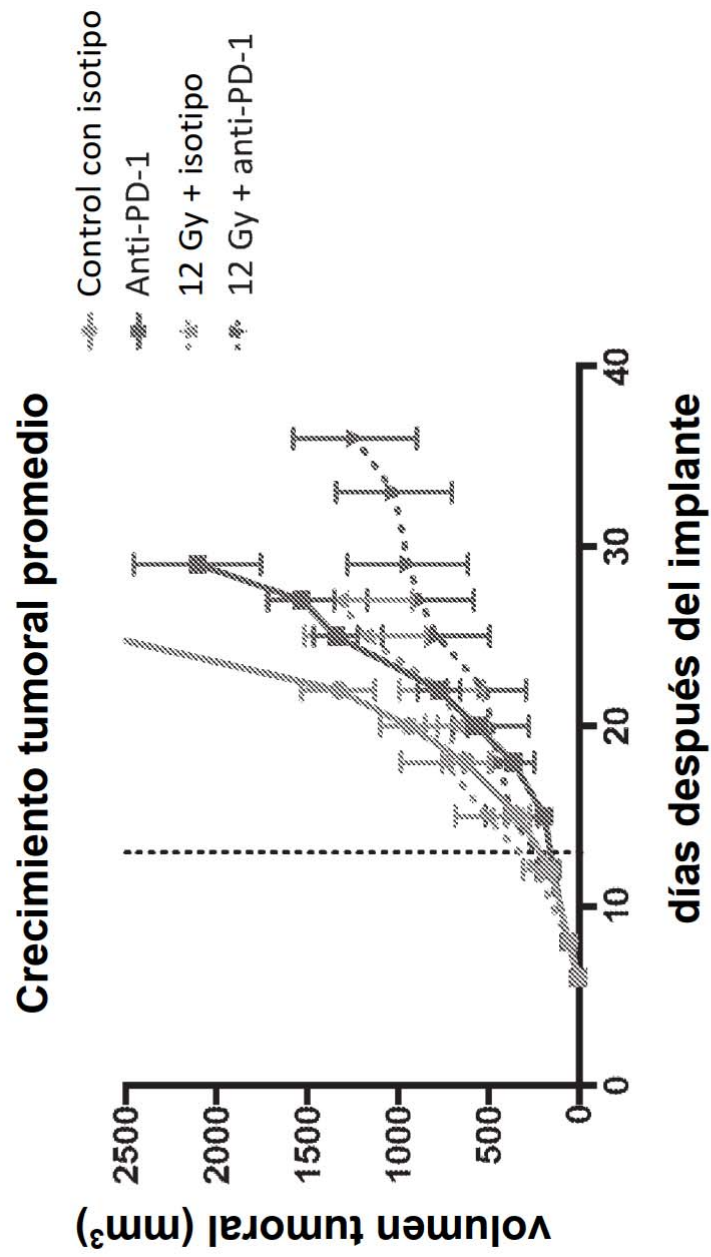


Figura 5

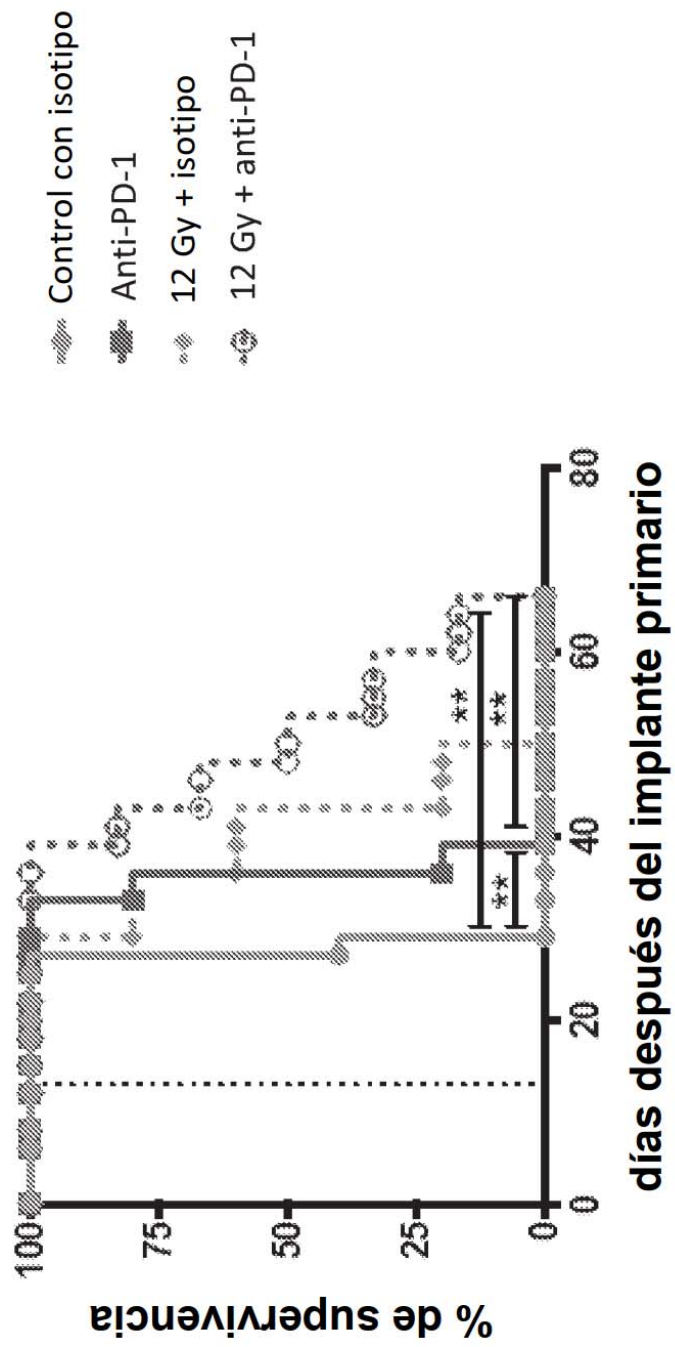


Figura 6

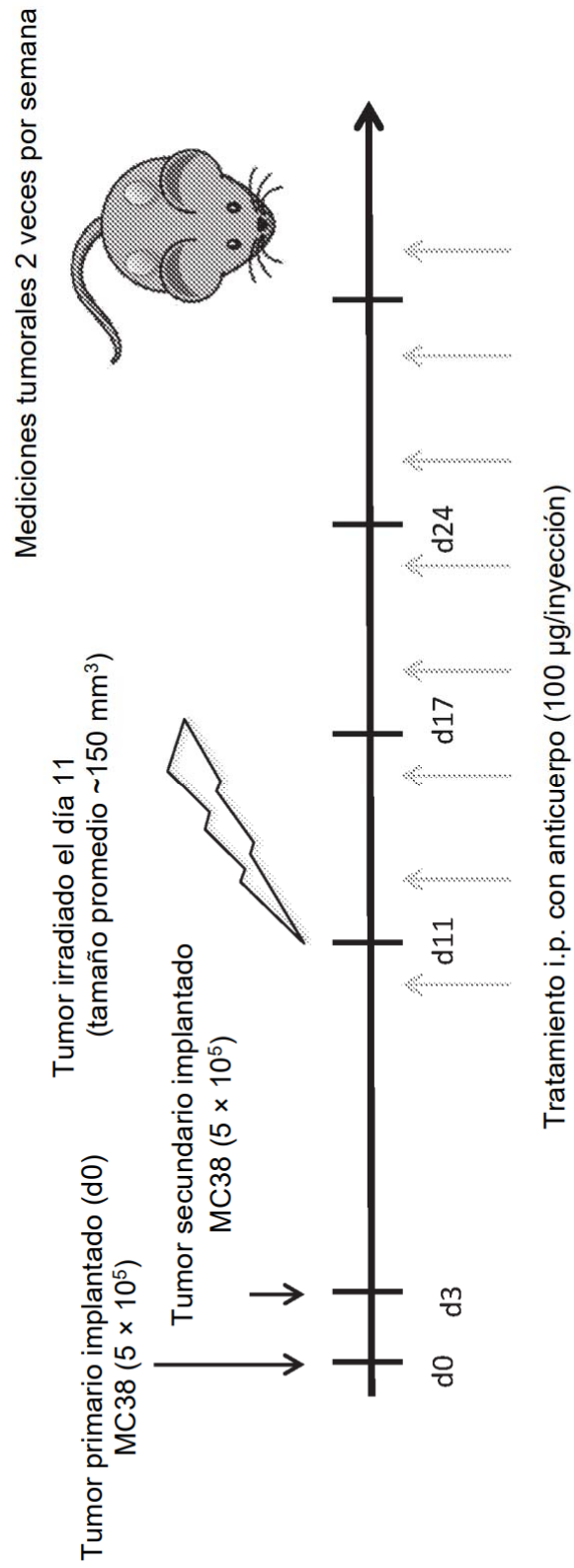


Figura 7

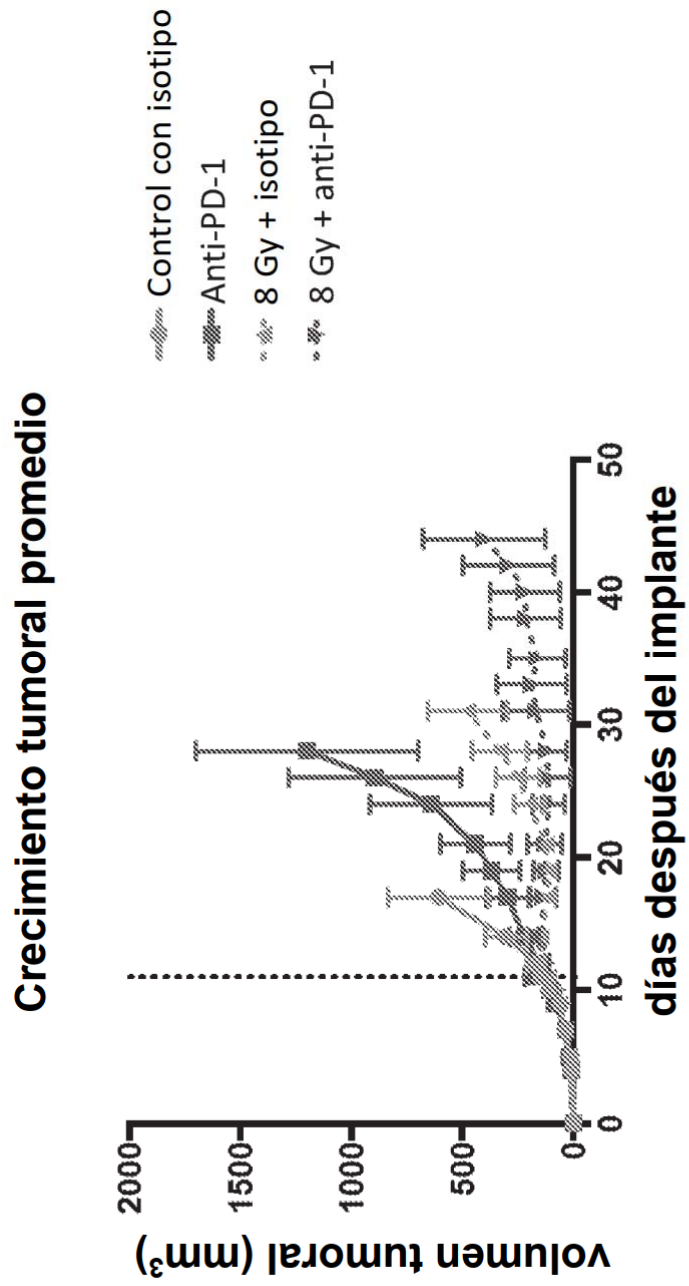


Figura 8

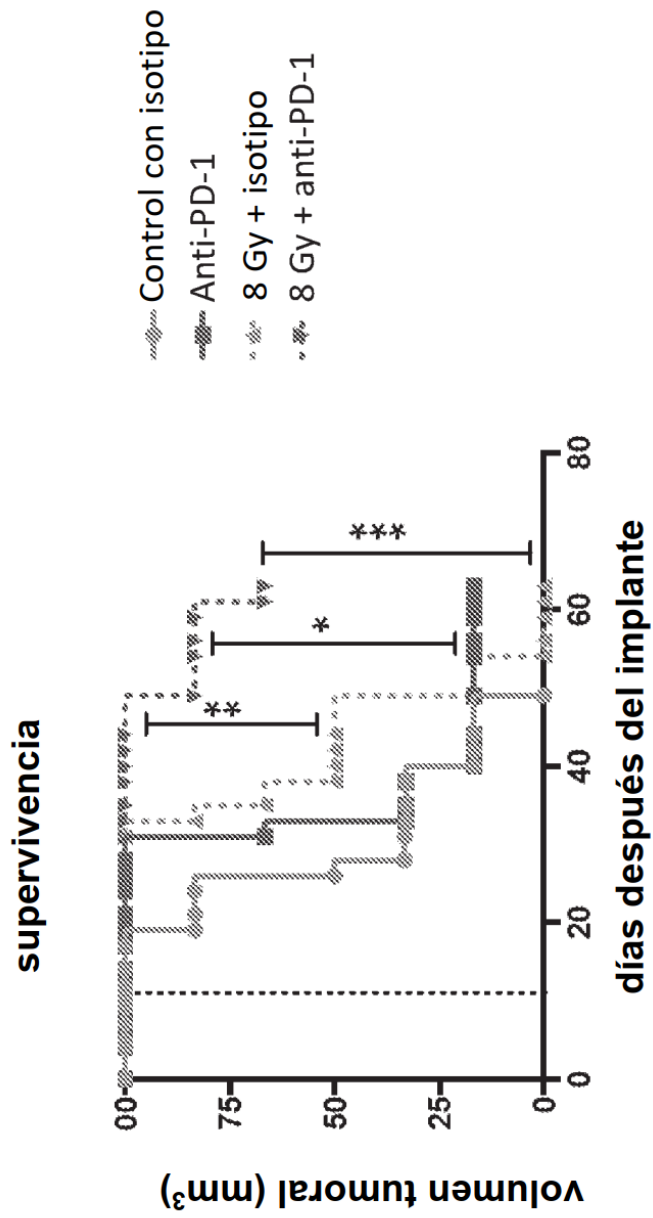


Figura 9

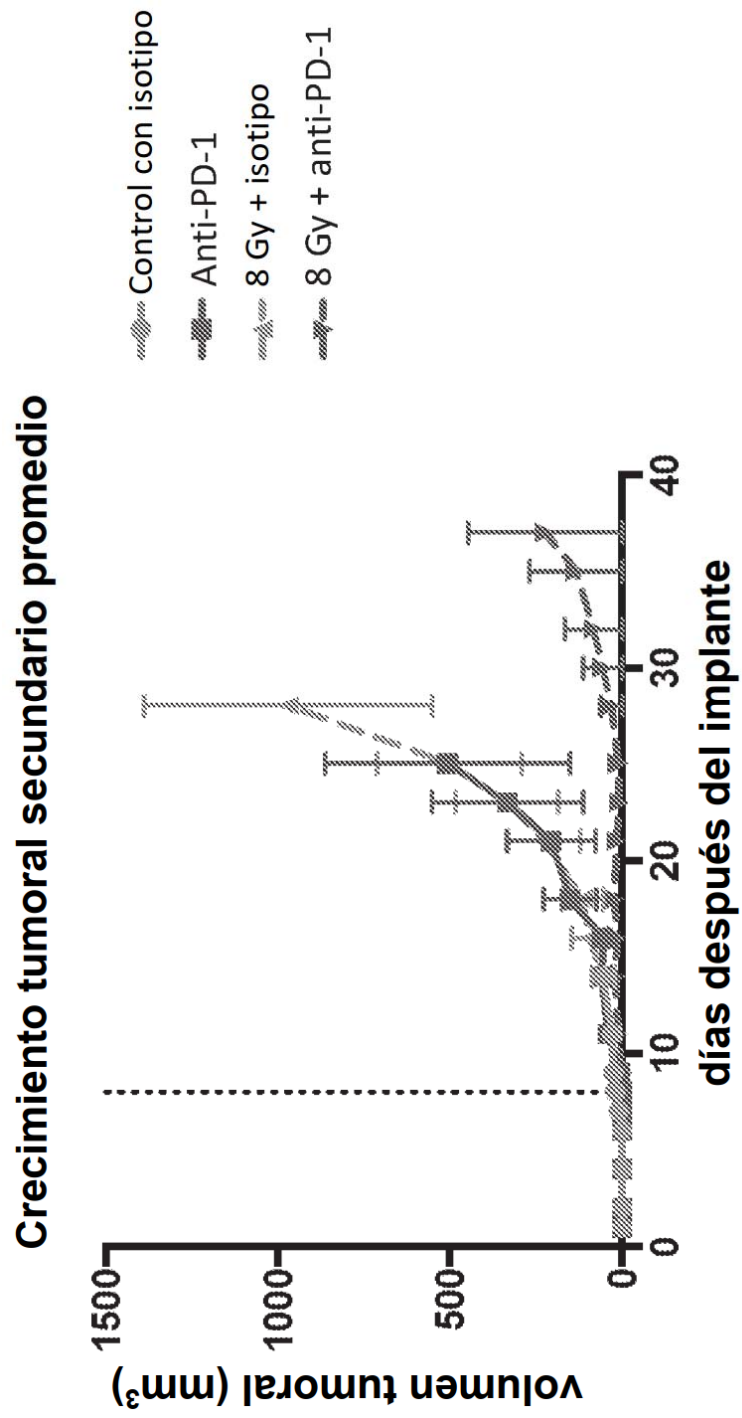


Figura 10

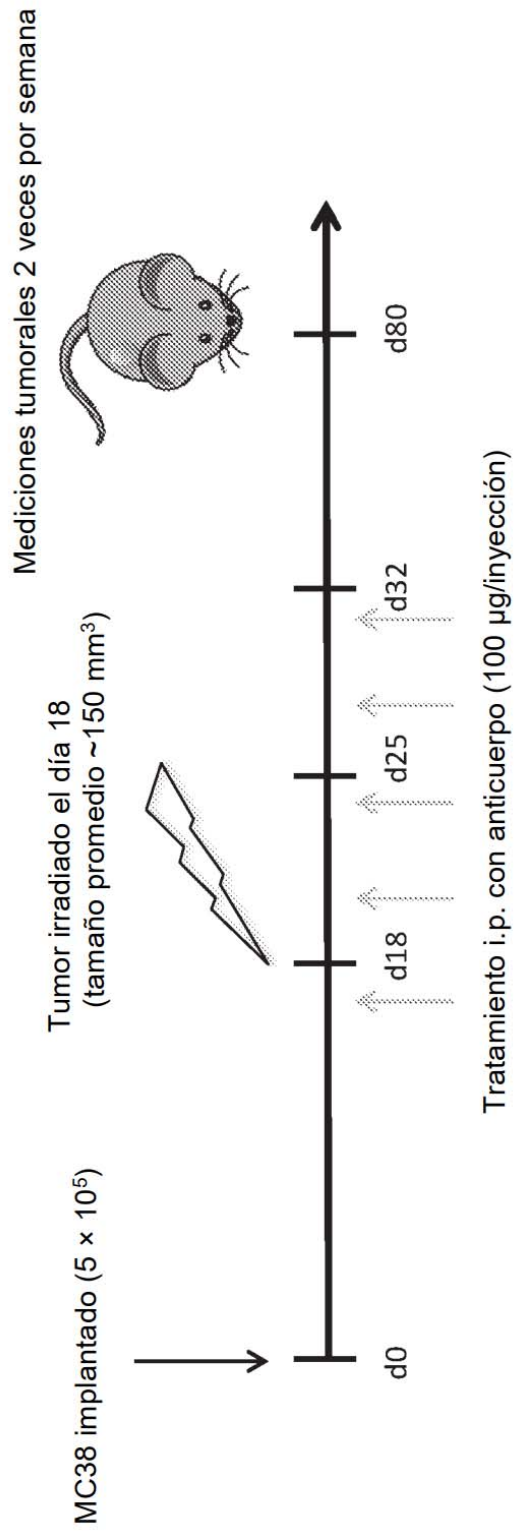


Figura 11

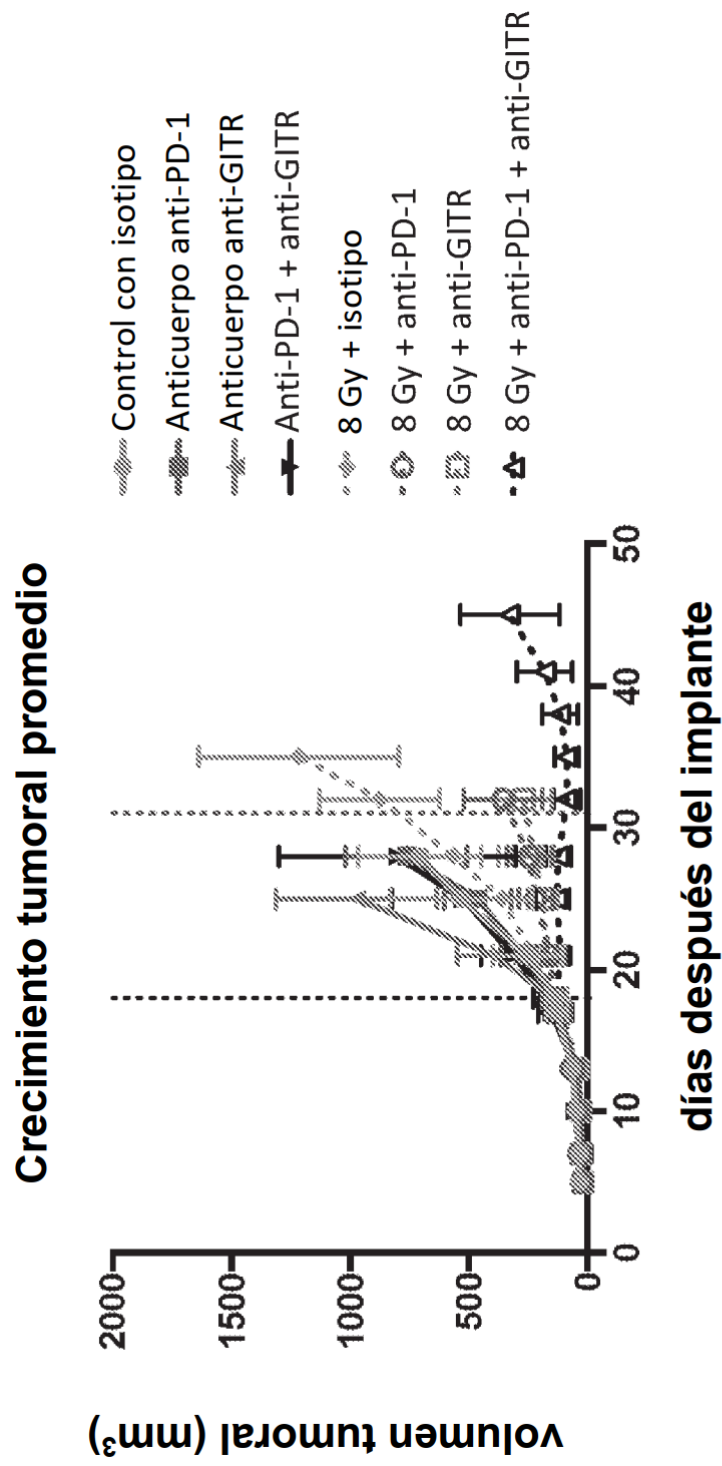


Figura 12

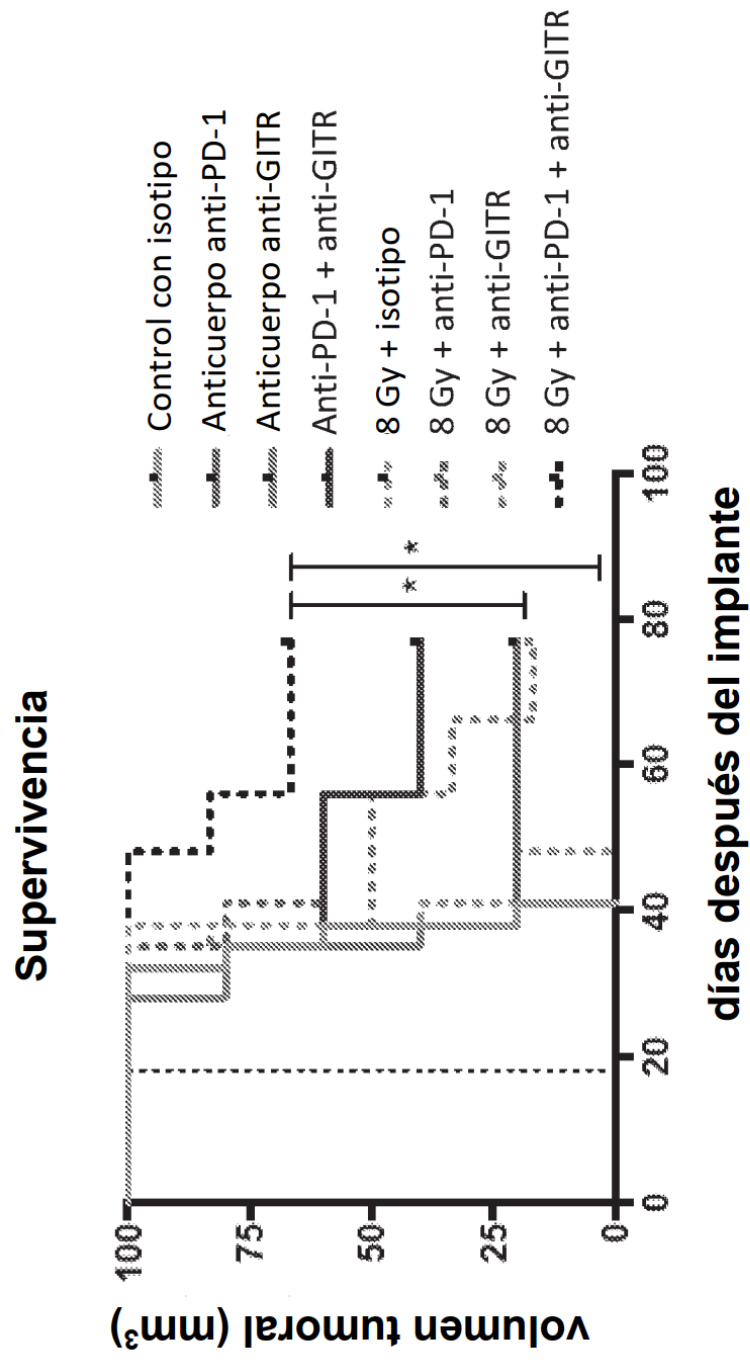


Figura 13

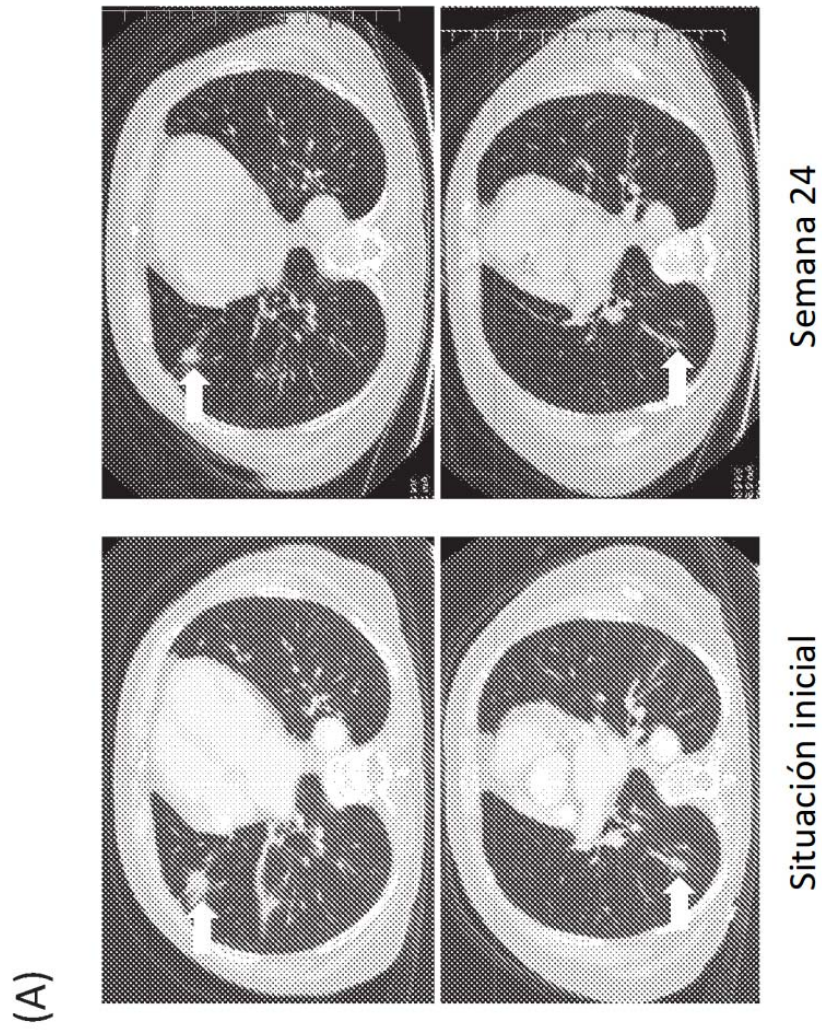
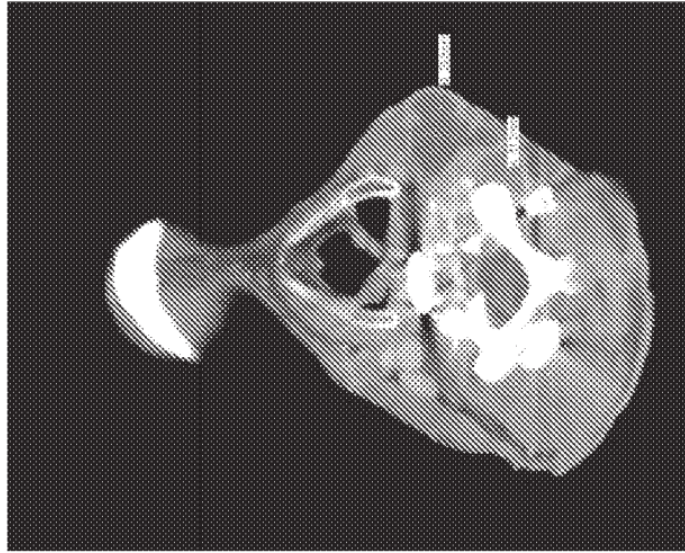
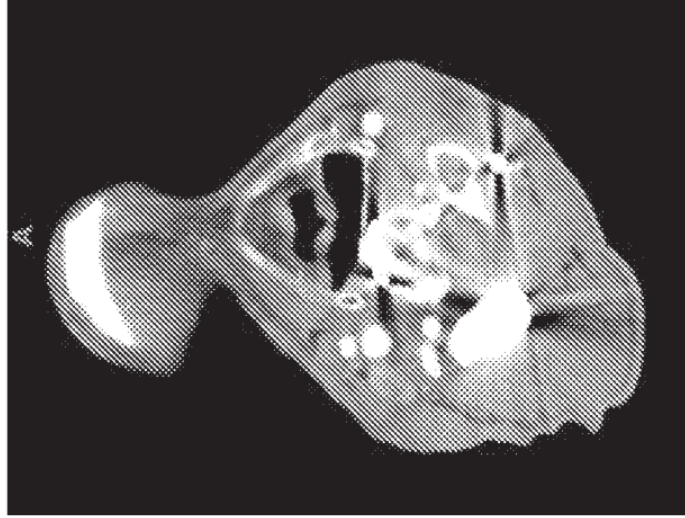


Figura 14A

(B)



Situación inicial



Semana 16

Figura 14B