

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2020-7331

(P2020-7331A)

(43) 公開日 令和2年1月16日(2020.1.16)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	T 4 C 0 8 4
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	E 4 C 0 8 5
A 6 1 K 31/404 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/506 (2006.01)	A 6 1 K 31/404	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/506	

審査請求 有 請求項の数 1 O L 外国語出願 (全 138 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2019-152086 (P2019-152086)	(71) 出願人	391015708
(22) 出願日	令和1年8月22日 (2019.8.22)		ブリストル・マイヤーズ スクイブ カン
(62) 分割の表示	特願2016-555590 (P2016-555590)		パニー
原出願日	平成27年3月4日 (2015.3.4)		BRISTOL-MYERS SQUIB
(31) 優先権主張番号	61/948, 428		B COMPANY
(32) 優先日	平成26年3月5日 (2014.3.5)		アメリカ合衆国08543ニュージャージ
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		ー州 プリンストン、ルート206アンド
(31) 優先権主張番号	61/977, 318	(74) 代理人	100145403
(32) 優先日	平成26年4月9日 (2014.4.9)		弁理士 山尾 憲人
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	100122301
			弁理士 富田 憲史
		(74) 代理人	100157956
			弁理士 稲井 史生

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗PD-1抗体と他の抗癌剤の組合せを使用する腎癌の処置

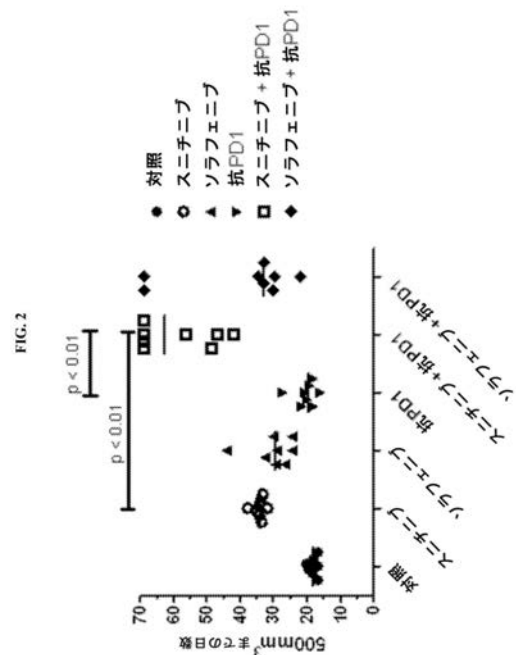
(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 腎癌に罹患している対象を処置する方法の提供

。

【解決手段】 対象に治療有効量の：(a) プログラム細胞死(PD-1)受容体と特異的に結合し、PD-1活性を阻害する抗体またはその抗原結合部分である抗癌剤；および(b) 他の抗癌剤を投与することを含む、方法。他の抗癌剤は、抗血管形成チロシンキナーゼ阻害剤または抗細胞毒性Tリンパ球抗原-4(CTLA-4)抗体であり得る。腎癌に罹患している対象を処置するためのキットも提供し、キットは、抗PD-1抗体の一定用量、抗血管形成チロシンキナーゼ阻害剤または抗CTLA-4抗体である他の抗癌剤の一定用量および腎癌を処置する本発明方法のいずれかにおいて抗PD-1抗体および他の抗癌剤を使用するための指示を含む。

【選択図】 図2



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

腎癌に罹患している対象を処置する方法であって、対象に治療有効量の：

(a) プログラム細胞死(PD-1)受容体に特異的に結合し、PD-1 活性を阻害する抗体
またはその抗原結合部分である抗癌剤；および

(b) 他の抗癌剤

の組合せを投与することを含む、方法。

【請求項 2】

腎癌が腎細胞癌である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分がヒト PD-1 との結合についてニボルマブと
交差競合する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分がキメラ、ヒト化またはヒトモノクローナル抗
体またはその一部である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分がヒト IgG1 または IgG4 アイソタイプの
ものである重鎖定常領域を含む、請求項 1 ～ 4 のいずれかに記載の方法。

【請求項 6】

抗 PD-1 抗体がニボルマブである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

抗 PD-1 抗体がペンブロリズマブである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

他の抗癌剤が抗血管形成チロシンキナーゼ阻害剤である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分を、約 2 週間、3 週間または 4 週間毎に 1 回、
約 0.1 ～ 約 10.0 mg/kg 体重の範囲の用量で投与する、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分を、3 週間毎に 1 回、2 mg/kg 体重または 5 mg
/kg 体重の用量で投与する、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

チロシンキナーゼ阻害剤がスニチニブである、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 12】

スニチニブを、28 日間の連日投与および 14 日間の休薬を含むサイクルで 12.5 ～
50 mg の範囲の用量で投与し、臨床上の利益が観察される限りまたは制御不可能な毒性ま
たは疾患進行が生じるまで、サイクルを反復する、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

スニチニブを、28 日間の連日投与および 14 日間の休薬を含むサイクルで 12.5 ～
50 mg の範囲の用量で投与し、続いてスニチニブ約 37.5 mg を連日臨床上の利益が観察
される限りまたは制御不可能な毒性または疾患進行が生じるまで投与する、請求項 11 に
記載の方法。

【請求項 14】

チロシンキナーゼ阻害剤がバゾパニブである、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 15】

バゾパニブを、400 ～ 800 mg の範囲の用量で連日または隔日で臨床上の利益が観察
される限りまたは制御不可能な毒性または疾患進行が生じるまで投与する、請求項 14 に
記載の方法。

【請求項 16】

他の抗癌剤が細胞毒性 T リンパ球抗原-4 (CTLA-4) と特異的に結合し、CTLA-
4 活性を阻害する抗体またはその抗原結合部分である、請求項 1 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 17】

抗CTLA-4抗体またはその抗原結合部分がヒトCTLA-4との結合についてイピリムマブと交差競合する、請求項16に記載の方法。

【請求項 18】

抗CTLA-4抗体またはその抗原結合部分がキメラ、ヒト化またはヒトモノクローナル抗体またはその一部である、請求項16に記載の方法。

【請求項 19】

抗CTLA-4抗体またはその抗原結合部分がヒトIgG1アイソタイプのものである重鎖定常領域を含む、請求項16～18のいずれかに記載の方法。

【請求項 20】

抗CTLA-4抗体がイピリムマブである、請求項16に記載の方法。

【請求項 21】

抗CTLA-4抗体がトレメリムマブである、請求項16に記載の方法。

【請求項 22】

(a)抗PD-1および抗CTLA-4抗体またはその抗原結合部分を組合せて2、4、6、8または10用量投与し、各用量が少なくとも2週間、3週間または4週間毎に1回投与する0.1～10.0mg/kg体重の範囲である導入期；および

(b)これに続けて、抗CTLA-4抗体またはその抗原結合部分を投与せず、抗PD-1抗体またはその抗原結合部分を0.1～10.0mg/kg体重の用量で少なくとも2週間、3週間または4週間毎に1回反復して投与する維持期を含む、
請求項16に記載の方法。

【請求項 23】

(a)導入期が3週間隔で投与する4組合せ用量を含み、ここで、：

(i)抗PD-1抗体またはその抗原結合部分を3mg/kg体重で投与し、抗CTLA-4抗体またはその抗原結合部分を1mg/kg体重で投与するか；

(ii)抗PD-1抗体またはその抗原結合部分を1mg/kg体重で投与し、抗CTLA-4抗体またはその抗原結合部分を3mg/kg体重で投与するか；または

(iii)抗PD-1抗体またはその抗原結合部分を3mg/kg体重で投与し、抗CTLA-4抗体またはその抗原結合部分を3mg/kg体重で投与し；そして

(b)維持期は、臨床上の利益が観察される限りまたは制御不可能な毒性または疾患進行が生じるまで2週間毎に3mg/kgの用量で抗PD-1抗体またはその抗原結合部分の反復投与を含む、請求項22に記載の方法。

【請求項 24】

抗PD-1および抗CTLA-4抗体が静脈内投与用に製剤される、請求項22に記載の方法。

【請求項 25】

抗PD-1抗体またはその抗原結合部分および抗CTLA-4抗体またはその抗原結合部分を導入期の間に対象に逐次的に投与する、請求項22に記載の方法。

【請求項 26】

抗PD-1および抗CTLA-4抗体を互いに30分以内に投与する、請求項25に記載の方法。

【請求項 27】

(a)抗PD-1抗体またはその抗原結合部分を抗CTLA-4抗体またはその抗原結合部分の前に投与する；または

(b)抗CTLA-4抗体またはその抗原結合部分を抗PD-1抗体またはその抗原結合部分の前に投与する、

請求項25に記載の方法。

【請求項 28】

抗PD-1抗体またはその抗原結合部分および抗CTLA-4抗体またはその抗原結合部分を同時に別々の組成物で投与する、請求項22に記載の方法。

【請求項 29】

抗PD-1抗体またはその抗原結合部分および抗CTLA-4抗体またはその抗原結合部分が同時投与用の単一組成物として混合される、請求項22に記載の方法。

【請求項 30】

抗PD-1抗体またはその抗原結合部分を治療量以下の用量で投与する、請求項22に記載の方法。

【請求項 31】

抗CTLA-4抗体またはその抗原結合部分を治療量以下の用量で投与する、請求項22に記載の方法。

【請求項 32】

抗PD-1抗体またはその抗原結合部分および抗CTLA-4抗体またはその抗原結合部分を、各々、治療量以下の用量で投与する、請求項22に記載の方法。

【請求項 33】

維持期における抗PD-1抗体の投与を臨床上の利益が観察される限りまたは制御可能な毒性または疾患進行が生じるまで続ける、請求項22に記載の方法。

【請求項 34】

腎癌に罹患している対象を処置するためのキットであって、

(a) PD-1受容体に特異的に結合し、PD-1活性を阻害する抗体またはその抗原結合部分である抗癌剤の0.1～10mg/kg体重の範囲の用量；

(b)

(i) 抗血管形成チロシンキナーゼ阻害剤；または

(ii) 0.1～10mg/kg体重の用量範囲のCTLA-4に特異的に結合し、阻害する抗体またはその抗原結合部分である他の抗癌剤の一定用量；および

(c) 請求項1、8または16のいずれかに記載の方法において抗PD-1抗体および他の抗癌剤を使用するための指示を含む、キット。

【請求項 35】

抗PD-1抗体またはその抗原結合部分および他の抗癌剤の投与が、未処置対象または抗PD-1抗体またはその抗原結合部分または他の抗癌剤の単剤療法で処置された対象と比較して腎癌組織のT細胞浸潤を増加させる、請求項1～33のいずれかに記載の方法。

【請求項 36】

増加したT細胞浸潤がCD4⁺/Ki67⁺T細胞、CD8⁺T細胞、CD8⁺/Ki67⁺T細胞またはこの任意の組合せの浸潤増加により特徴付けられる、請求項35に記載の方法。

【請求項 37】

増加したT細胞浸潤がCD4⁺/Ki67⁺T細胞、CD8⁺/Ki67⁺T細胞または両者の浸潤増加により特徴付けられる、請求項36に記載の方法。

【請求項 38】

T細胞浸潤が少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%または少なくとも約90%増加する、請求項35～37のいずれかに記載の方法。

【請求項 39】

抗PD-1抗体またはその抗原結合部分および他の抗癌剤の投与が、未処置対象または抗PD-1抗体またはその抗原結合部分または他の抗癌剤の単剤療法で処置された対象と比較して増殖性T細胞を増加する、請求項1～33および35～38のいずれかに記載の方法。

【請求項 40】

増殖性T細胞がCD4⁺/Ki67⁺T細胞、CD8⁺T細胞、CD8⁺/Ki67⁺T細胞またはこの任意の組合せである、請求項39に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 4 1】

増殖性 T 細胞の頻度が少なくとも約 10 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 80 % または少なくとも約 90 % 増加する、請求項 39 または 40 に記載の方法。

【請求項 4 2】

抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分および他の抗癌剤の投与が、未処置対象または抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分または他の抗癌剤の単剤療法で処置された対象と比較して単球性骨髄由来サプレッサー細胞数を減少させる、請求項 1～33 および 35～41 のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 4 3】

単球性骨髄由来サプレッサー細胞数が少なくとも約 5 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 80 % または少なくとも約 90 % 減少する、請求項 42 に記載の方法。

【請求項 4 4】

単球性骨髄由来サプレッサー細胞が $CD11b^+ / Ly6C^{hi} / Ly6G^-$ 発現または $CD11b^+ / Ly6C^{low} / Ly6G^-$ 発現により特徴付けられる、請求項 42 または 43 に記載の方法。

【請求項 4 5】

抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分および他の抗癌剤の投与が、未処置対象または抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分または他の抗癌剤の単剤療法で処置された対象と比較して顆粒球性骨髄系細胞数を増加させる、請求項 1～33 および 35～44 のいずれかに記載の方法。

20

【請求項 4 6】

顆粒球性骨髄系細胞数が少なくとも約 5 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 80 % または少なくとも約 90 % 増加する、請求項 44 に記載の方法。

【請求項 4 7】

顆粒球性骨髄系細胞が $CD11b^+ / Ly6C^- / Ly6G^+$ 発現により特徴付けられる、請求項 45 または 46 に記載の方法。

30

【請求項 4 8】

抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分および他の抗癌剤の投与が、未処置対象または抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分または他の抗癌剤の単剤療法で処置された対象と比較して T 制御性細胞を減少させる、請求項 1～33 および 35～47 のいずれかに記載の方法。

【請求項 4 9】

T 制御性細胞が $CD45^+ / CD4^+ / CD25^+ / FoxP3^+$ 発現により特徴付けられる、請求項 48 に記載の方法。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本明細書をとおして、種々の刊行物が、括弧内の著者名および日付または特許番号もしくは特許公開番号により引用される。これらの刊行物の完全な引用が、本願明細書の最後に表示されている。これらの刊行物の記載を、本明細書作成当時の技術水準をより完全に説明するために、その全体を引用により本明細書に包含させる。しかしながら、ここでのこれら文献の引用は、このような引用文献が本願発明の先行技術であることを認めるものと解釈されてはならない。

【0002】

50

発明の分野

本発明は、抗プログラム細胞死(PD-1)抗体である抗癌剤と他の抗癌剤の組合せを投与することを含む、対象における腎癌を処置する方法に関する。ある態様において、他の抗癌剤は、抗細胞毒性Tリンパ球抗原-4(CTLA-4)抗体、抗血管形成チロシンキナーゼ阻害剤またはそれらの組合せである。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

ヒト癌は、免疫系により認識可能な可能性のある新規抗原を産生する、多数の遺伝的および後成的変更を保有している(Sjoberg et al., 2006)。Tリンパ球およびBリンパ球からなる適応免疫系は、多種多様な腫瘍抗原に応答する広い能力および精巧な特異性を備えた、強力な抗癌潜在力を有する。さらに、免疫系には、相当な柔軟性および記憶成分が見られる。適応免疫系の全てのこれらの特性利用の成功は、全癌処置手法の中で、免疫療法を独特なものとする。

【0004】

最近まで、癌免疫療法は、実質的に、活性化エフェクター細胞を養子移入して抗腫瘍免疫応答を増強するアプローチ、適切な抗原に対する免疫化またはサイトカインのような非特異的免疫刺激剤の提供に注力してきた。ここ十年、しかしながら、特異的免疫チェックポイント経路阻害剤を開発するための集中的努力が、進行型黒色腫を有する患者を処置するための細胞毒性Tリンパ球抗原-4(CTLA-4)と結合し、阻害する抗体(Ab)、イピリムマブ(ヤーボイ(登録商標))(Hodi et al., 2010)およびプログラム細胞死(PD-1)受容体と特異的に結合し、PD-1/PD-L1阻害性リガンド経路を遮断するニボルマブおよびペンブロリズマブ(以前はランプロリズマブ; USAN Council Statement, 2013)のようなAbの開発を含む癌の処置のための新規免疫療法アプローチを提供し始めている(Brahmer et al., 2010; Topalian et al., 2012a; Topalian et al., 2014; Hamid et al., 2013; Brahmer et al., 2012; Flies et al., 2011; Pardoll, 2012; Hamid and Carvajal, 2013)。

【0005】

PD-1は、活性化T細胞およびB細胞により発現され、免疫抑制を仲介する重要な免疫チェックポイント受容体である。PD-1は、CD28、CTLA-4、ICOS、PD-1およびBTLAを含む受容体のCD28ファミリーのメンバーである。PD-1の2つの細胞表面糖タンパク質リガンド、プログラム死リガンド-1(PD-L1)およびプログラム死リガンド-2(PD-L2)が同定されており、これらは、抗原提示細胞ならびに多くのヒト癌で発現され、PD-1への結合によりT細胞活性化およびサイトカイン分泌を下方制御することが示されている。PD-1/PD-L1相互作用の阻害は、前臨床モデルにおいて強力な抗腫瘍活性を仲介し(米国特許8,008,449号および7,943,743号)、癌の処置のためのPD-1/PD-L1相互作用のAb阻害剤の阻害剤は臨床試験に入っている(Brahmer et al., 2010; Topalian et al., 2012a; Topalian et al., 2014; Hamid et al., 2013; Brahmer et al., 2012; Flies et al., 2011; Pardoll, 2012; Hamid and Carvajal, 2013)。

【0006】

ニボルマブ(以前は5C4、BMS-936558、MDX-1106またはONO-4538と呼ばれていた)は、PD-1リガンド(PD-L1およびPD-L2)との相互作用を選択的に阻止し、それにより、抗腫瘍T細胞機能の下方制御を遮断する、完全ヒトIgG4(S228P)PD-1免疫チェックポイント阻害剤Abである(米国特許8,008,449号; Wang et al., 2014)。ニボルマブは、腎細胞癌(RCC; 腎腺癌または副腎腫)、黒色腫および非小細胞性肺癌を含む多様な進行型固形腫瘍における活性が示されている(Topalian et al., 2012a; Topalian et al., 2014; Drake et al., 2013; W02013/173223)。

【0007】

イピリムマブ(ヤーボイ(登録商標))は、CTLA-4のそのB7リガンドへの結合を遮

10

20

30

40

50

断し、それによりT細胞活性化を刺激し、進行型黒色腫を有する患者における全生存期間(OS)を改善する、完全ヒト、IgG1モノクローナルAbである(Hodi et al., 2010)。フェーズ1臨床試験におけるニボルマブおよびイピリムマブでの現在の治療は、進行型黒色腫を有する患者の相当な割合における、急速かつ強い腫瘍退縮を生じ、いずれかのAb単独よりも有意に有効であった(Wolchok et al., 2013; W02013/173223)。しかしながら、この免疫調節性Abの組合せが、他の腫瘍タイプに同様に有効であるか否かは現在まで知られていない。

【0008】

腎癌(腎臓癌としても知られる)は、腎臓に端を発する癌である。腎癌の最も一般的なタイプは腎細胞癌(RCC)である。RCCは、腎臓およびすぐ周囲の組織に局在化している間(ステージI)に診断され、処置されるならば、しばしば、外科的切除により治療でき、全摘出が、ステージIIならびにステージIII RCCで認容され、しばしば治療的治療である。対照的に、遠隔転移が存在するとき(ステージIV)、無病生存期間は不良である。さらに、進行する、繰り返すまたは再発する疾患を有する何らかの処置をしたRCC患者の予後も、細胞型またはステージと関係なく悪い。RCC患者の約25%~30%が、診断時に転移疾患を有し、転移RCCの生存期間中央値は、わずか約24ヶ月である(Gupta et al., 2008; NCCN GUIDELINES(登録商標)、Version 3.2014 - Kidney Cancer; Heng et al., 2009)。細胞毒性化学療法剤に対する応答は、一般に適切な数の患者で試験されているあらゆるレジメンで10%を超えていない。しかしながら、RCCの生物学の理解の深まりが、特異的増殖経路を標的とする7種の新規薬剤の開発と食品医薬品局(FDA)承認をもたらした。商品化された標的治療剤のうちの2種、テムシロリムスおよびエベロリムスは、細胞増殖、分裂および生存を制御するセリン/スレオニンタンパク質キナーゼであるラパマイシンの哺乳動物標的(mTOR)を遮断する。血管内皮細胞増殖因子(VEGF)介在血管新生促進経路を標的とする数剤が開発されており、5種の経口チロシンキナーゼ阻害剤(TKI)、パゾパニブ、ソラフェニブ、スニチニブ、アクシチニブおよびチボザニブおよび抗VEGFモノクローナル抗体(mAb)、ベバシズマブを含む。これらの薬剤は臨床効果および無増悪生存期間(PFS)改善を示すが、永続性の応答は稀である。VEGF TKIは、免疫阻害制御性T細胞(Treg)および骨髄由来抑制細胞(MDSC)の抑制を示し、免疫環境を、T細胞介在抗腫瘍活性をより助けるものとする。さらに、VEGF軸の標的化は、RCC誘発免疫抑制を減弱し得て、組合せて使用したときに腫瘍を免疫調節により応答性とし、それにより、より大きくかつ永続性の治療効果をもたらす。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0009】

- 【特許文献1】国際公開第2012/145493号明細書
- 【特許文献2】国際公開第2013/173223号明細書
- 【特許文献3】米国特許第5,977,318号明細書
- 【特許文献4】米国特許第6,051,227号明細書
- 【特許文献5】米国特許第6,682,736号明細書
- 【特許文献6】米国特許第6,808,710号明細書
- 【特許文献7】米国特許第6,984,720号明細書
- 【特許文献8】米国特許第7,034,121号明細書
- 【特許文献9】米国特許第7,605,238号明細書
- 【特許文献10】米国特許第7,488,802号明細書
- 【特許文献11】米国特許第7,943,743号明細書
- 【特許文献12】米国特許第8,008,449号明細書
- 【特許文献13】米国特許第8,168,757号明細書
- 【特許文献14】米国特許第8,217,149号明細書
- 【特許文献15】米国特許第8,354,509号明細書

【非特許文献】

【0010】

【非特許文献1】Amin et al. (2014) Nivolumab (anti-PD-1; BMS-936558, ONO-4538) in combination with sunitinib or pazopanib in patients (pts) with metastatic renal cell carcinoma (mRCC). J Clin Oncol 32:5s, (suppl; Abstract 5010, Clinical Science Symposium).

【非特許文献2】Blank et al. (2005) Cancer Immunol. Immunother. 54:307-314.

【非特許文献3】Brahmer et al. (2010) J Clin Oncol 28:3167-75.

【非特許文献4】Brahmer et al. (2012) N Engl J Med 366:2455-65.

【非特許文献5】Carter et al. (2002) Eur J Immunol 32:634-43.

10

【非特許文献6】Choueiri et al. (2014) Immunomodulatory activity of nivolumab in previously treated and untreated metastatic renal cell carcinoma (mRCC): Biomarker-based results from a randomized clinical trial. J Clin Oncol 32:5s, (suppl; Abstract 5012, Clinical Science Symposium).

【非特許文献7】Dong et al. (2002) Nat. Med. 8:787-9.

【非特許文献8】Dong et al. (2003) J. Mol. Med. 81:281-7.

【非特許文献9】Drake et al. (2013) BJU Int 112(Supplement 3):1-17.

【非特許文献10】Elhilali et al. (2000) BJU Int 86:613-8.

【非特許文献11】Escudier et al. (2007) Clin Cancer Res 13(6):1801-1809.

【非特許文献12】Escudier et al. (2010) J Clin Oncol 28(13):2144-50.

20

【非特許文献13】Eskens et al. (2011) Clin Cancer Res 17(22):7156-63.

【非特許文献14】Flies et al. (2011) Yale J Biol Med 84:409-21.

【非特許文献15】Freeman et al. (2000) J Exp Med 192:1027-34.

【非特許文献16】Fyfe et al. (1995) J Clin Oncol 13(3):688-96.

【非特許文献17】Gollob et al. (2007) J Clin Oncol 25(22): 3288-95.

【非特許文献18】Grunwald et al. (2011) Acta Oncol 50(1):121-126.

【非特許文献19】Gupta et al. (2008) Cancer Treat Rev 34(3):193-205.

【非特許文献20】Hamid and Carvajal (2013) Expert Opin Biol Ther 13(6):847-61.

【非特許文献21】Hamid et al. (2013) N Engl J Med 369:134-144.

【非特許文献22】Hammers et al. (2014) Phase I study of nivolumab in combination with ipilimumab in metastatic renal cell carcinoma (mRCC). J Clin Oncol 32:5s, (suppl; Abstract 4504, Oral Abstract Session).

30

【非特許文献23】Heng et al. (2009) J Clin Oncol. 27:5794-9.

【非特許文献24】Herbst et al. (2013) J Clin Oncol 31(suppl; Abstract 3000).

【非特許文献25】Hipp et al. (2008) Blood 111:5610-20.

【非特許文献26】Hodi et al. (2010) N Engl J Med 363:711-23.

【非特許文献27】Houben et al. (2009) Mol Cancer Ther 28:433-40.

【非特許文献28】Hudes et al. (2007) N Engl J Med 356(22):2271-81.

【非特許文献29】Inman et al. (2013) Eur Urol 63:881-9.

【非特許文献30】Konishi et al. (2004) Clin. Cancer Res. 10:5094-100.

40

【非特許文献31】Johnson et al. (2013) Cancer Immunol Res 1:373-77.

【非特許文献32】Khleif (2013) In: Proceedings from the European Cancer Congress 2013; September 27-October 1, 2013; Amsterdam, The Netherlands. Abstract 802.

【非特許文献33】Ko et al. (2009) Clin Cancer Res 15:2148-57.

【非特許文献34】Ko et al. (2010) Cancer Res 70:3526-36.

【非特許文献35】Konishi et al. (2004) Clin. Cancer Res. 10:5094-100.

【非特許文献36】Latchman et al. (2001) Nat Immunol 2:261-8.

【非特許文献37】McDermott and Atkins (2013) Cancer Med 2(5):662-73.

【非特許文献38】Molhoek et al. (2009) Cancer Immunol Immunother 58:867-76.

【非特許文献39】Motzer et al. (2007) N Engl J Med 356:115-24.

50

- 【非特許文献 4 0】Motzer et al. (2008) Lancet 372:449-56.
- 【非特許文献 4 1】Motzer et al. (2009) Clin Genitourin Cancer 7(1):28-33.
- 【非特許文献 4 2】Motzer et al. (2013) N Engl J Med 369:722-31.
- 【非特許文献 4 3】Motzer et al. (2014) Nivolumab for metastatic renal cell carcinoma (mRCC): Results of a randomized, dose-ranging phase II trial. J Clin Oncol 32:5s, (suppl; Abstract 5009, Clinical Science Symposium).
- 【非特許文献 4 4】Mulders (2009) BJU Int 104:1585-89.
- 【非特許文献 4 5】NCCN GUIDELINES(登録商標) (2014), available at: http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp#site, last accessed May 30, 2014.
- 【非特許文献 4 6】Nosov et al. (2012) J Clin Oncol 30(14):1678-85.
- 【非特許文献 4 7】Oza-Choy et al. (2009) Cancer Res 69:2514-22.
- 【非特許文献 4 8】Pardoll (2012) Nat Rev Cancer 12:252-64.
- 【非特許文献 4 9】Procopio et al. (2011) Br J Cancer 104(8):1256-1261.
- 【非特許文献 5 0】Ribas (2010) Semin Oncol 37(5):450-4.
- 【非特許文献 5 1】Rini et al. (2010) J Clin Oncol 28(13): 2137-43.
- 【非特許文献 5 2】Rini et al. (2011) Cancer 117:758-67.
- 【非特許文献 5 3】Rosenblatt and McDermott (2011) Hematol Oncol Clin North Am 25:793-812.
- 【非特許文献 5 4】Ryan et al. (2007) J Clin Oncol 25(22):3296-301.
- 【非特許文献 5 5】Siegel et al. (2014) CA Cancer J Clin 64(1):9-29.
- 【非特許文献 5 6】Sjoberg et al. (2006) Science 314:268-74.
- 【非特許文献 5 7】Sonpavde et al. (2008) Expert Opin Investig Drugs 17(5):741-8.
- 【非特許文献 5 8】Sternberg et al. (2010) J Clin Oncol 28(6):1061-8.
- 【非特許文献 5 9】Topalian et al. (2012a) N Engl J Med 366:2443-54.
- 【非特許文献 6 0】Topalian et al. (2012b) Curr Opin Immunol 24:207-12.
- 【非特許文献 6 1】Topalian et al. (2014) J Clin Oncol 32(10):1020-30.
- 【非特許文献 6 2】USAN Council Statement (2013) Pembrolizumab: Statement on a nonproprietary name adopted by the USAN Council (ZZ-165), November 27, 2013.
- 【非特許文献 6 3】Yang et al. (2007) J Immunother 30(8):825-30.
- 【非特許文献 6 4】Wang et al. (2014) In vitro characterization of the anti-PD-1 antibody nivolumab, BMS-936558, and in vivo toxicology in non-human primates, Cancer Imm Res, in press.

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

ここに記載するように、2種の抗血管形成(抗VEGF)TKI、スニチニブ(スーテント(登録商標))またはソラフェニブ(ネクサバル(登録商標))と組合せたニボルマブの活性は、前臨床RCCマウスモデルで試験されている。ニボルマブとスニチニブ、パゾパニブ(ヴォトリエン(登録商標))またはイピリムマブの組合せの臨床データもここに提供する。

【課題を解決するための手段】

【0012】

発明の要約

本発明は、対象に、(a)PD-1に特異的に結合し、阻害するAbまたはその抗原結合部分;および(b)他の抗癌剤の組合せの治療有効量を投与することを含む、腎癌に罹患している対象を処置する方法を提供する。ある態様において、他の抗癌剤は、(i)CTLA-4に特異的に結合し、阻害するAbまたはその抗原結合部分、(ii)抗血管形成TKIまたは(iii)それらの組合せである。ある態様において、腎癌はRCCである。ここに開示する治療法のいずれかのある態様において、抗PD-1 Abはニボルマブである。他の

態様において、抗PD-1 Abはペンブロリズマブである。ここに開示する治療法のいずれかのある他の態様において、抗CTLA-4 Abはイピリムマブである。他の態様において、抗CTLA-4 Abはトレメリムマブである。さらに他の態様において、TKIはスニチニブ、パゾパニブ、ソラフェニブ、アクシチニブまたはチボザニブである。

【0013】

ある態様において、対象は、腎癌について前処置されている。他の態様において、腎癌は進行、転移および／または難治性癌である。ある態様において、Abまたはその抗原結合部分とTKIの組合せの投与は、対象における永続性の臨床応答を誘発する。

【0014】

ある態様において、抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分と他の抗癌剤の組合せの投与は、未処置対象または抗PD-1 Abもしくはその抗原結合部分または他の抗癌剤の単剤で処置された対象と比較して、腎癌組織または腫瘍のT細胞浸潤の増加をもたらす。他の態様において、増加したT細胞浸潤は、腎癌組織または腫瘍へのCD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞または両者への浸潤増加により特徴付けられる。さらに他の態様において、抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分と他の抗癌剤の組合せの投与は、T細胞増殖の増加をもたらす。他の態様において、抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分と他の抗癌剤の組合せの投与は、未処置対象または抗PD-1 Abもしくはその抗原結合部分または他の抗癌剤の単剤で処置された対象と比較して、T制御性細胞の低減をもたらす。

【0015】

ある態様において、抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分と他の抗癌剤の組合せの投与は、単球性骨髄由来サプレッサー細胞の数を減少させる。ある態様において、抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分と他の抗癌剤の組合せの投与は、未処置対象または抗PD-1 Abもしくはその抗原結合部分または他の抗癌剤の単剤で処置された対象と比較して、顆粒球性骨髄系細胞の数を増加させる。ある態様において、単球性骨髄由来サプレッサー細胞は、CD11b⁺/Ly6C^{hi}/Ly6G⁻の発現またはCD11b⁺/Ly6C^{low}/Ly6G⁻の発現により特徴付けられる。他の態様において、顆粒球性骨髄系細胞は、CD11b⁺/Ly6C⁻/Ly6G⁺の発現により特徴付けられる。

【0016】

抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分とTKIの組合せの使用を含む方法のある態様において、抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分の治療有効量は、約2～4週間毎に1回静脈内注入により投与して約0.1～約10.0mg/kg体重の範囲である。ある態様において、抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分を、3週間毎に1回約2mg/kgまたは約5mg/kgの用量で投与する。

【0017】

抗PD-1 Abと抗CTLA-4 Abの組合せについて、ある態様において、方法は、(a)次の用量で3週間間隔で投与する抗PD-1 Abおよび抗CTLA-4 Ab 4回投与を含む導入期：(i)約1mg/kg抗PD-1 Abおよび約3mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(ii)約3mg/kg抗PD-1 Abおよび約3mg/kgの抗CTLA-4 Ab；または(iii)約3mg/kg抗PD-1 Abおよび約1mg/kgの抗CTLA-4 Ab；および(b)2週間毎に約3mg/kgの用量で抗PD-1 Abの反復投与を含む維持期を含む。

【0018】

本発明はまた腎癌に罹患している対象を処置するためのキットも提供し、キットは：(a)PD-1に特異的に結合し、阻害するAbまたはその抗原結合部分の1用量；(b)(i)CTLA-4に特異的に結合し、阻害するAbまたはその抗原結合部分または(ii)抗血管形成TKI、例えば、スニチニブまたはパゾパニブの一つの1用量；および(c)対象を処置するための、抗PD-1 Abおよび抗CTLA-4 AbまたはTKIの使用指示を含む。

【0019】

本発明の他の特性および利点は、次の詳細な記載および例から明らかであるように、限

10

20

30

40

50

定と解釈してはならない。本出願をとおして引用される科学論文、新聞記事、GenBankエントリー、特許および特許出願を含む全ての引用文献の内容を、明示的に引用により本明細書に包含させる。

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1】図1は、平均腫瘍体積増加に対する次の治療剤での処置効果を示す：対照(黒丸)、スニチニブ(白丸)、ソラフェニブ(黒三角)、抗PD-1(黒逆三角)、スニチニブ+抗PD-1(白四角)およびソラフェニブ+抗PD-1(黒菱形)。

【0021】

【図2】図2は、対照(黒丸)、スニチニブ(白丸)、ソラフェニブ(黒三角)、抗PD-1(黒逆三角)、スニチニブ+抗PD-1(白四角)およびソラフェニブ+抗PD-1(黒菱形)で処置した腫瘍が500mm³の体積に達する時間を示す。

10

【0022】

【図3】図3は、体重の変化パーセンテージに対する次の治療剤での処置効果を示す：対照(黒丸)、スニチニブ(白丸)、ソラフェニブ(黒三角)、抗PD-1(黒逆三角)、スニチニブ+抗PD-1(白四角)およびソラフェニブ+抗PD-1(黒菱形)。

【0023】

【図4】図4は、対照、抗PD-1単独、スニチニブ単独またはスニチニブと組合せた抗PD-1での処置後のRenca腫瘍へのCD4⁺およびCD8⁺T細胞浸潤を示す。

【0024】

20

【図5】図5は、Renca腫瘍モデルにおけるスニチニブ、ソラフェニブまたは抗PD-1 Ab単独またはスニチニブまたはソラフェニブと組合せた抗PD-1 Abでの処置後のフローサイトメトリーによる腫瘍浸潤性CD4⁺免疫細胞の組成の評価を示す。

【0025】

【図6】図6は、Renca腫瘍モデルにおけるスニチニブ、ソラフェニブまたは抗PD-1 Ab単独またはスニチニブまたはソラフェニブと組合せた抗PD-1 Abでの処置後のフローサイトメトリーによる腫瘍浸潤性CD8⁺免疫細胞の組成の評価を示す。

【0026】

【図7】図7は、Renca腫瘍モデルにおけるスニチニブ、ソラフェニブまたは抗PD-1 Ab単独またはスニチニブまたはソラフェニブと組合せた抗PD-1 Abでの処置後の骨髓由来腫瘍浸潤性細胞サブセット(CD11b⁺/Ly6C^{hi}/Ly6G⁻、CD11b⁺/Ly6C^{low}/Ly6G⁻またはCD11b⁺/Ly6C⁻/Ly6G⁺)の評価を示す。ゲーティング：細胞→重項→CD45⁺/生存→CD11b⁺。

30

【0027】

【図8】図8は、CT26腫瘍モデルにおけるペプチド特異的細胞毒性応答に対する抗PD-1 mAbとスニチニブの組合せの効果を示す。X軸は細胞死のパーセンテージを示す。各棒は、上から下に(i)対照、(ii)抗PD-1 10mg/kg、Q3D×2 IP、(iii)スニチニブ120mg/kg、QD×5、POおよび(iv)抗PD-1+スニチニブを示す。

【0028】

40

【図9】図9は、CT26腫瘍モデルにおける腫瘍体積に対する抗PD-1 mAbとスニチニブの組合せの効果を示す。腫瘍体積(mm³)を、対照、抗PD-1 10mg/kg Q3D×IP、スニチニブ120mg/kg QD×5 POおよび抗PD-1+スニチニブの投与についてy軸に示す。

【0029】

【図10A】図10Aおよび10Bは、フェーズ1試験デザインを示す。図10Aおよび10Bは、それぞれ進行型または転移RCC(mRCC)を有する対象におけるニボルマブおよびスニチニブまたはパゾパニブ(A)またはニボルマブおよびイピリムマブ(B)の組合せの試験デザインを示す(NCT01472081)。*進行型/転移RCCについて、少なくとも1つの全身治療レジメンを受けているが、前にパゾパニブまたはスニチニブを受けていない

50

対象を、2用量漸増アームに、両アームがオープンであるときには交互の様式で割り当てた。1アームのみがオープンであったならば、これらの対象をオープンアームに割り当てた。＊＊疾患進行(PD)または薬物関連毒性が中断に至らしめるまでまたは対象が同意を撤回するまで。＊＊＊少なくとも1つの全身性治療を前に受けているが、漸増期アームSおよび／またはPで、これらがオープンであるとき認定されていない対象を、2つのイピリムマブ組合せアーム(I-1およびI-3)に、両者がオープンであるときに、交互の様式で割り当てた。1アームのみがオープンであったならば、これらの対象をオープンアームに割り当てた。＃未処置対象を、4アーム(拡張アームSおよびPおよびI-1およびI-3)の一つに、全アームがオープンであったならば、全登録が完了するまで、1:1:1比で無作為に割り当てた。＃＃疾患進行(PD)または薬物関連毒性が中断に至らしめるまでまたは対象が同意を撤回するまで。最初の治験担当医評価RECIST 1.1定義進行を超える処置を、治験担当医評価臨床上の利益を経験し、治験治療剤に耐容性である対象において考慮した。このような対象は、さらなる進行が報告されたとき、治療を中断することが要求された。＃＃＃I-1およびI-3コホート拡張およびIN-3用量付加コホートについて、局在型または局所進行性RCCのための一つの先のアジュバントまたはネオアジュバント治療は、再発が生じたのがアジュバントまたはネオアジュバント治療の最後の投与後 ≥ 6 ヶ月である限り、許容した。先の治療としての、RCCの前のサイトカインベースの処置[例えば、インターフェロナーアルファ(IFN- α)またはインターロイキン2(IL-2)]は許容した。これらの最小限に処置された(未処置を含む)対象を、3アーム(I-1、I-3およびIN-3)の一つに、全アームがオープンであるならば、1:1:1比で全登録が完了するまで無作為に割り当てた。

【図10B】図10Aおよび10Bは、フェーズ1試験デザインを示す。図10Aおよび10Bは、それぞれ進行型または転移RCC(mRCC)を有する対象におけるニボルマブおよびスニチニブまたはパゾパニブ(A)またはニボルマブおよびイピリムマブ(B)の組合せの試験デザインを示す(NCT01472081)。＊進行型／転移RCCについて、少なくとも1つの全身治療レジメンを受けているが、前にパゾパニブまたはスニチニブを受けていない対象を、2用量漸増アームに、両アームがオープンであるときには交互の様式で割り当てた。1アームのみがオープンであったならば、これらの対象をオープンアームに割り当てた。＊＊疾患進行(PD)または薬物関連毒性が中断に至らしめるまでまたは対象が同意を撤回するまで。＊＊＊少なくとも1つの全身性治療を前に受けているが、漸増期アームSおよび／またはPで、これらがオープンであるとき認定されていない対象を、2つのイピリムマブ組合せアーム(I-1およびI-3)に、両者がオープンであるときに、交互の様式で割り当てた。1アームのみがオープンであったならば、これらの対象をオープンアームに割り当てた。＃未処置対象を、4アーム(拡張アームSおよびPおよびI-1およびI-3)の一つに、全アームがオープンであったならば、全登録が完了するまで、1:1:1比で無作為に割り当てた。＃＃疾患進行(PD)または薬物関連毒性が中断に至らしめるまでまたは対象が同意を撤回するまで。最初の治験担当医評価RECIST 1.1定義進行を超える処置を、治験担当医評価臨床上の利益を経験し、治験治療剤に耐容性である対象において考慮した。このような対象は、さらなる進行が報告されたとき、治療を中断することが要求された。＃＃＃I-1およびI-3コホート拡張およびIN-3用量付加コホートについて、局在型または局所進行性RCCのための一つの先のアジュバントまたはネオアジュバント治療は、再発が生じたのがアジュバントまたはネオアジュバント治療の最後の投与後 ≥ 6 ヶ月である限り、許容した。先の治療としての、RCCの前のサイトカインベースの処置[例えば、インターフェロナーアルファ(IFN- α)またはインターロイキン2(IL-2)]は許容した。これらの最小限に処置された(未処置を含む)対象を、3アーム(I-1、I-3およびIN-3)の一つに、全アームがオープンであるならば、1:1:1比で全登録が完了するまで無作為に割り当てた。

【0030】

【図11】図11は、ニボルマブ組合せ治療のSアームおよびPアームで実施した用量漸増を示す。Sアームは、S+N2を投与された7前処置対象；S+N5を投与された7前

処置対象；および S + N 5 拡張に入った 19 未処置患者からなった。P アームは、P + N 2 を投与された 20 前処置対象からなった。P アームの拡張はなかった。

【0031】

【図 12A】図 12A～D は、ニボルマブとスニチニブまたはパゾパニブの組合せで処置された R C C 対象の臨床活性を示す。レーダーチャートは、種々のレジメンを受けた対象における、全標的病変の二方向積和として測定して、腫瘍負荷のベースラインからの変化パーセンテージを示す。図 12A は、スニチニブおよび 2 mg/kg ニボルマブのレジメンを示す。図 12B は、スニチニブおよび 5 mg/kg ニボルマブのレジメンを示す。図 12C は、パゾパニブおよび 2 mg/kg ニボルマブのレジメンを示す。“+”は、新病変の最初の発生を示す。図 12D は、S アームおよび P アームにおける対象のベースライン標的病変における最大応答パーセンテージを示す、ウォーターフォールプロットである。ベースライン標的病変および少なくとも 1 回のベースライン後標的病変評価をした対象を示す。腫瘍負荷における正の変化は腫瘍増大を示す；腫瘍負荷における負の変化は腫瘍縮小を示す。レーダーチャートおよびウォーターフォールプロットにおいて、横線は 30% 減少 (PR についての R E C I S T 1.1 閾値) および 20% 増加 (PD についての R E C I S T 1.1 閾値) を示す。ベースラインからの 30% 以上の減少の全てが PR とは限らない。

【図 12B】図 12A～D は、ニボルマブとスニチニブまたはパゾパニブの組合せで処置された R C C 対象の臨床活性を示す。レーダーチャートは、種々のレジメンを受けた対象における、全標的病変の二方向積和として測定して、腫瘍負荷のベースラインからの変化パーセンテージを示す。図 12A は、スニチニブおよび 2 mg/kg ニボルマブのレジメンを示す。図 12B は、スニチニブおよび 5 mg/kg ニボルマブのレジメンを示す。図 12C は、パゾパニブおよび 2 mg/kg ニボルマブのレジメンを示す。“+”は、新病変の最初の発生を示す。図 12D は、S アームおよび P アームにおける対象のベースライン標的病変における最大応答パーセンテージを示す、ウォーターフォールプロットである。ベースライン標的病変および少なくとも 1 回のベースライン後標的病変評価をした対象を示す。腫瘍負荷における正の変化は腫瘍増大を示す；腫瘍負荷における負の変化は腫瘍縮小を示す。レーダーチャートおよびウォーターフォールプロットにおいて、横線は 30% 減少 (PR についての R E C I S T 1.1 閾値) および 20% 増加 (PD についての R E C I S T 1.1 閾値) を示す。ベースラインからの 30% 以上の減少の全てが PR とは限らない。

【図 12C】図 12A～D は、ニボルマブとスニチニブまたはパゾパニブの組合せで処置された R C C 対象の臨床活性を示す。レーダーチャートは、種々のレジメンを受けた対象における、全標的病変の二方向積和として測定して、腫瘍負荷のベースラインからの変化パーセンテージを示す。図 12A は、スニチニブおよび 2 mg/kg ニボルマブのレジメンを示す。図 12B は、スニチニブおよび 5 mg/kg ニボルマブのレジメンを示す。図 12C は、パゾパニブおよび 2 mg/kg ニボルマブのレジメンを示す。“+”は、新病変の最初の発生を示す。図 12D は、S アームおよび P アームにおける対象のベースライン標的病変における最大応答パーセンテージを示す、ウォーターフォールプロットである。ベースライン標的病変および少なくとも 1 回のベースライン後標的病変評価をした対象を示す。腫瘍負荷における正の変化は腫瘍増大を示す；腫瘍負荷における負の変化は腫瘍縮小を示す。レーダーチャートおよびウォーターフォールプロットにおいて、横線は 30% 減少 (PR についての R E C I S T 1.1 閾値) および 20% 増加 (PD についての R E C I S T 1.1 閾値) を示す。ベースラインからの 30% 以上の減少の全てが PR とは限らない。

【図 12D】図 12A～D は、ニボルマブとスニチニブまたはパゾパニブの組合せで処置された R C C 対象の臨床活性を示す。レーダーチャートは、種々のレジメンを受けた対象における、全標的病変の二方向積和として測定して、腫瘍負荷のベースラインからの変化パーセンテージを示す。図 12A は、スニチニブおよび 2 mg/kg ニボルマブのレジメンを示す。図 12B は、スニチニブおよび 5 mg/kg ニボルマブのレジメンを示す。図 12C は、パゾパニブおよび 2 mg/kg ニボルマブのレジメンを示す。“+”は、新病変の最初の発生を示す。図 12D は、S アームおよび P アームにおける対象のベースライン標的病変における最大応答パーセンテージを示す、ウォーターフォールプロットである。ベースライ

10

20

30

40

50

ン標的病変および少なくとも1回のベースライン後標的病変評価をした対象を示す。腫瘍負荷における正の変化は腫瘍増大を示す；腫瘍負荷における負の変化は腫瘍縮小を示す。レーダーチャートおよびウォーターフォールプロットにおいて、横線は30%減少(PRについてのRECIST 1.1 閾値)および20%増加(PDについてのRECIST 1.1 閾値)を示す。ベースラインからの30%以上の減少の全てがPRとは限らない。

【0032】

【図13】図13は、ニボルマブおよびスニチニブ(S+N)またはニボルマブおよびパゾパニブ(P+N)で処置した対象の時間に対してプロットした無増悪生存期間(PFS)の比率を示す。記号は検閲された観察値を表す。記載されているリスクのある患者の数は、期間に入る前にリスクのあった数である。Tx：処置。

【0033】

【図14A】図14A～14Dは、イピリムマブとニボルマブの組合せで処置したRCC対象の臨床活性を示す。レーダーチャートは、種々のレジメンを受けた対象における、全標的病変の二方向積和として測定して、腫瘍負荷のベースラインからの変化パーセンテージを示す。図14Aは、3mg/kgイピリムマブおよび1mg/kgニボルマブのレジメンを示す。図14Bは、1mg/kgイピリムマブおよび3mg/kgニボルマブのレジメンを示す。図14Cは、3mg/kgイピリムマブおよび3mg/kgニボルマブのレジメンを示す。“+”は、新病変の最初の発生を示す。図14Dは、I-1、I-3およびIN-3アームにおける対象のベースライン標的病変における最大応答パーセンテージを示すウォーターフォールプロットである。ベースライン標的病変および少なくとも1回のベースライン後標的病変評価をした対象を示す。腫瘍負荷における正の変化は腫瘍増大を示す；腫瘍負荷における負の変化は腫瘍縮小を示す。レーダーチャートおよびウォーターフォールプロットにおいて、横線は、30%減少(PRについてのRECIST 1.1 閾値)および20%増加(PDについてのRECIST 1.1 閾値)を示す。ベースラインからの30%以上の減少の全てがPRとは限らない。

【図14B】図14A～14Dは、イピリムマブとニボルマブの組合せで処置したRCC対象の臨床活性を示す。レーダーチャートは、種々のレジメンを受けた対象における、全標的病変の二方向積和として測定して、腫瘍負荷のベースラインからの変化パーセンテージを示す。図14Aは、3mg/kgイピリムマブおよび1mg/kgニボルマブのレジメンを示す。図14Bは、1mg/kgイピリムマブおよび3mg/kgニボルマブのレジメンを示す。図14Cは、3mg/kgイピリムマブおよび3mg/kgニボルマブのレジメンを示す。“+”は、新病変の最初の発生を示す。図14Dは、I-1、I-3およびIN-3アームにおける対象のベースライン標的病変における最大応答パーセンテージを示すウォーターフォールプロットである。ベースライン標的病変および少なくとも1回のベースライン後標的病変評価をした対象を示す。腫瘍負荷における正の変化は腫瘍増大を示す；腫瘍負荷における負の変化は腫瘍縮小を示す。レーダーチャートおよびウォーターフォールプロットにおいて、横線は、30%減少(PRについてのRECIST 1.1 閾値)および20%増加(PDについてのRECIST 1.1 閾値)を示す。ベースラインからの30%以上の減少の全てがPRとは限らない。

【図14C】図14A～14Dは、イピリムマブとニボルマブの組合せで処置したRCC対象の臨床活性を示す。レーダーチャートは、種々のレジメンを受けた対象における、全標的病変の二方向積和として測定して、腫瘍負荷のベースラインからの変化パーセンテージを示す。図14Aは、3mg/kgイピリムマブおよび1mg/kgニボルマブのレジメンを示す。図14Bは、1mg/kgイピリムマブおよび3mg/kgニボルマブのレジメンを示す。図14Cは、3mg/kgイピリムマブおよび3mg/kgニボルマブのレジメンを示す。“+”は、新病変の最初の発生を示す。図14Dは、I-1、I-3およびIN-3アームにおける対象のベースライン標的病変における最大応答パーセンテージを示すウォーターフォールプロットである。ベースライン標的病変および少なくとも1回のベースライン後標的病変評価をした対象を示す。腫瘍負荷における正の変化は腫瘍増大を示す；腫瘍負荷における負の変化は腫瘍縮小を示す。レーダーチャートおよびウォーターフォールプロットにお

10

20

30

40

50

いて、横線は、30%減少(P RについてのRECIST 1.1 閾値)および20%増加(P DについてのRECIST 1.1 閾値)を示す。ベースラインからの30%以上の減少の全てがP Rとは限らない。

【図14D】図14A～14Dは、イピリマブとニボルマブの組合せで処置したRCC対象の臨床活性を示す。レーダーチャートは、種々のレジメンを受けた対象における、全標的病変の二方向積和として測定して、腫瘍負荷のベースラインからの変化パーセンテージを示す。図14Aは、3mg/kgイピリマブおよび1mg/kgニボルマブのレジメンを示す。図14Bは、1mg/kgイピリマブおよび3mg/kgニボルマブのレジメンを示す。図14Cは、3mg/kgイピリマブおよび3mg/kgニボルマブのレジメンを示す。“+”は、新病変の最初の発生を示す。図14Dは、I-1、I-3およびIN-3アームにおける対象のベースライン標的病変における最大応答パーセンテージを示すウォーターフォールプロットである。ベースライン標的病変および少なくとも1回のベースライン後標的病変評価をした対象を示す。腫瘍負荷における正の変化は腫瘍増大を示す；腫瘍負荷における負の変化は腫瘍縮小を示す。レーダーチャートおよびウォーターフォールプロットにおいて、横線は、30%減少(P RについてのRECIST 1.1 閾値)および20%増加(P DについてのRECIST 1.1 閾値)を示す。ベースラインからの30%以上の減少の全てがP Rとは限らない。

10

【0034】

【図15】図15は、Sアーム、PアームおよびIアームにおける対象のウォーターフォールプロットの比較を示す。ベースライン標的病変および少なくとも1回のベースライン後標的病変評価をした対象を示す。腫瘍負荷における正の変化は腫瘍増大を示す；腫瘍負荷における負の変化は腫瘍縮小を示す。横線は、30%減少(P RについてのRECIST 1.1 閾値)および20%増加(P DについてのRECIST 1.1 閾値)を示す。ベースラインからの30%以上の減少の全てがP Rとは限らない。

20

【0035】

【図16】図16は、1mg/kgイピリマブ+3mg/kgニボルマブ(IPI1+INV3)(星印)、3mg/kgイピリマブ+1mg/kgニボルマブ(IPI3+NIV1)(丸)および3mg/kgニボルマブ+3mg/kgイピリマブ(IPI3+NIV3)(三角)で処置された対象の最初の投与からの時間(週)に対してプロットしたPFSの割合を示す。記号は検閲された観察値を表す。記載されているリスクのある患者の数は、期間に入る前にリスクのあった数である。

30

【発明を実施するための形態】

【0036】

発明の詳細な記載

本発明は、患者に抗PD-1 Abまたはその抗原結合フラグメントと他の抗癌剤の組合せを投与することを含む、腎癌患者を処置する方法に関する。ある態様において、他の抗癌剤は、抗CTLA-4 Ab、抗血管形成TKIまたはこの任意の組合せである。

【0037】

用語

本発明がより迅速に理解され得るように、まずいくつかの用語を定義する。本明細書で使用する限り、ここで他に明示的に提供されない限り、次の用語の各々は、下記意味を有する。さらなる定義は、本明細書をとおして示される。

40

【0038】

“投与する”は、当業者に知られる種々の方法および送達系のいずれかを使用する、対象への治療剤を含む組成物の物理的導入をいう。抗PD-1 Abのための好ましい投与経路は、例えば注射または点滴による、静脈内、筋肉内、皮下、腹腔内、脊髄または他の非経腸投与経路を含む。ここで使用する用語“非経腸投与”は、通常、注射による経腸および局所投与以外の投与方式を意味し、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、リンパ内、病巣内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、嚢下、クモ膜下、脊髄内、硬膜外および胸骨内注射および点滴、ならびにインビボエレクトロポレ

50

ーションを含むが、これらに限定されない。TKIは、一般に非経腸ではない経路で、好ましくは経口で投与される。他の非経腸ではない経路は、局所、上皮または粘膜投与経路、例えば、鼻腔内、膣、直腸、舌下または局所的を含む。投与は、例えば、1回、複数回および／または1回以上の長期にわたり実施し得る。

【0039】

ここで使用する“有害事象”(AE)は、医学的処置剤の使用と関係する、あらゆる好ましくないおよび一般に意図されないまたは望ましくない徴候(検査所見を含む)、症状または疾患である。例えば、有害事象は、処置に応答した免疫系の活性化または免疫系細胞(例えば、T細胞)の拡張と関係し得る。医学的処置は1以上のAEと関係し得て、各AEの重症度レベルは同じであるかまたは異なり得る。“有害事象を変える”ことができる方法の言及は、異なる処置レジメの使用と関係する1以上のAEの発生率および／または重症度を低減する処置レジメを意味する。

10

【0040】

“抗体”(Ab)は、抗原に特異的に結合し、ジスルフィド結合により相互接続した少なくとも2重(H)鎖および2軽(L)鎖を含む糖タンパク質免疫グロブリンまたはその抗原結合部分をいう。各H鎖は、重鎖可変領域(ここでは V_H と略す)および重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は、3定常ドメイン、 C_{H1} 、 C_{H2} および C_{H3} を含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域(ここでは V_L と略す)および軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は1定常ドメイン、 C_L を含む。 V_H および V_L 領域は、フレームワーク領域(FR)と呼ばれる、さらに保存された領域が散在する相補性決定領域(CDR)と呼ばれる超可変性の領域にさらに

20

【0041】

免疫グロブリンは、IgA、分泌型IgA、IgGおよびIgMを含むが、これらに限定されない、一般に知られるアイソタイプのいずれかに由来し得る。IgGサブクラスも当業者に周知であり、ヒトIgG1、IgG2、IgG3およびIgG4を含むが、これらに限定されない。“アイソタイプ”は、重鎖定常領域遺伝子によりコードされるAbクラスまたはサブクラス(例えば、IgMまたはIgG1)をいう。用語“抗体”は、例として、天然に存在するおよび天然に存在しない両者のAb；モノクローナルおよびポリクローナルAb；キメラおよびヒト化Ab；ヒトまたは非ヒトAb；完全合成Ab；および一本鎖Abを含む。非ヒトAbは、ヒトにおける免疫原性を低減するために組み換え法によりヒト化され得る。明示的に記載されておらず、文脈から他の解釈が示されない限り、用語“抗体”はまた、上記免疫グロブリンのいずれかの抗原結合フラグメントまたは抗原結合部分も含み、一価および二価フラグメントまたは部分および一本鎖Abを含む。

30

【0042】

“単離された抗体”は、異なる抗原特異性を有する他のAbを実質的に含まないAbをいう(例えば、PD-1に特異的に結合する単離されたAbは、PD-1以外の抗原に特異的に結合するAbを実質的に含まない)。PD-1に特異的に結合する単離されたAbは、しかしながら、異なる種からのPD-1分子のような他の抗原と交差反応性を有する。さらに、単離されたAbは、他の細胞物質および／または化学物質を実質的に含まない可能性がある。

40

【0043】

用語“モノクローナル抗体”(“mAb”)は、単一分子組成のAb分子、すなわち、一次配列が本質的に同一であり、特定のエピトープに対する単結合特異性および親和性を有するAb分子の天然に存在しない調製物をいう。mAbは単離されたAbの一例である。mAbはハイブリドーマ、組み換え、遺伝子導入または他の当業者に知られる技術により産生され得る。

50

【0044】

“ヒト”抗体(HuMAb)は、フレームワークおよびCDR領域の両者がヒト生殖系列免疫グロブリン配列由来である、可変領域を有するAbをいう。さらに、Abが定常領域を含むならば、定常領域もヒト生殖系列免疫グロブリン配列由来である。本発明のヒトAbは、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によりコードされないアミノ酸残基を含み得る(例えば、インビトロでランダム変異誘発または部位特異的変異誘発によりまたはインビボで体細胞突然変異により導入された変異)。しかしながら、ここで使用する用語“ヒト抗体”は、マウスのような他の哺乳動物種の生殖系列由来のCDR配列がヒトフレームワーク配列に移植されている、Abを含むことを意図しない。用語“ヒト”Abおよび“完全ヒト”Abは、同義的に使用される。

10

【0045】

“ヒト化抗体”は、非ヒトAbのCDRドメイン外のアミノ酸の一部、大部分または全てがヒト免疫グロブリン由来の対応するアミノ酸で置き換えられているAbをいう。Abのヒト化形態のある態様において、CDRドメイン外のアミノ酸の一部、大部分または全てがヒト免疫グロブリンからのアミノ酸で置き換わっており、1以上のCDR領域内のアミノ酸の一部、大部分または全ては不変である。アミノ酸の小さな付加、欠失、挿入、置換または修飾は、Abが特定の抗原に結合する能力を抑制しない限り、許容できる。“ヒト化”Abは、元のAbに類似する抗原特異性を保持する。

【0046】

“キメラ抗体”は、可変領域がマウスAb由来であり、定常領域がヒトAb由来であるAbのような、可変領域がある種に由来し、定常領域が他の種に由来するAbをいう。

20

【0047】

“抗抗原”Abは、抗原に特異的に結合するAbをいう。例えば、抗PD-1 AbはPD-1に特異的に結合し、抗CTLA-4 AbはCTLA-4に特異的に結合する。

【0048】

Abの“抗原結合部分”(“抗原結合フラグメント”とも呼ぶ)は、Ab全体により結合される抗原に特異的に結合する能力を保持する、Abの1以上のフラグメントをいう。

【0049】

“癌”は、体内の異常細胞の未制御の増殖により特徴付けられる種々の疾患の広い群をいう。未制御の細胞分裂および増殖分裂および増殖は、隣接組織を浸潤し、リンパ系または血流を介して、体の遠位部分に転移もし得る悪性腫瘍の形成に至る。“癌”または“癌組織”は腫瘍を含み得る。

30

【0050】

“細胞毒性Tリンパ球抗原-4(CTLA-4)”は、CD28ファミリーに属する免疫阻害受容体をいう。CTLA-4はインビボでT細胞に排他的に発現され、2つのリガンド、CD80およびCD86(それぞれB7-1およびB7-2とも呼ばれる)に結合する。ここで使用する用語“CTLA-4”は、ヒトCTLA-4(hCTLA-4)、hCTLA-4の変異体、アイソフォームおよび種ホモログおよびhCTLA-4と少なくとも1つの共通エピトープを有するアナログを含む。完全hCTLA-4配列は、GenBank Accession No. AAB59385下に見ることができる。

40

【0051】

用語“免疫療法”は、免疫応答を誘発する、増強する、抑制するまたは他に修飾する方法による、疾患を有するもしくは罹患もしくは再発のリスクのある対象の処置をいう。

【0052】

対象の“処置”または“治療”は、症状、合併症または状態または疾患と関係する生化学的兆候の発症、進行、発展、重症度または再発を逆転する、軽減する、回復させる、阻止する、減速させるまたは予防する目的で、対象に実施される、あらゆるタイプの介入もしくは過程または活性剤の投与をいう。

【0053】

“プログラム細胞死(PD-1)”は、CD28ファミリーに属する免疫阻害受容体であ

50

る。PD-1は、インビボで以前に活性化されたT細胞上に優勢に発現され、2つのリガンド、PD-L1およびPD-L2と結合する。ここで使用する用語“PD-1”は、ヒトPD-1(hPD-1)、hPD-1の変異体、アイソフォームおよび種ホモログおよびhPD-1と少なくとも1つの共通エピトープを有するアナログを含む。完全hPD-1配列は、GenBank Accession No. U64863下に見ることができる。

【0054】

“プログラム死リガンド-1(PD-L1)”は、PD-1への結合によりT細胞活性化およびサイトカイン分泌を下方制御する、PD-1(他はPD-L2)の2つの細胞表面糖タンパク質リガンドの一つである。ここで使用する用語“PD-L1”は、ヒトPD-L1(hPD-L1)、hPD-L1の変異体、アイソフォームおよび種ホモログおよびhPD-L1と少なくとも1つの共通エピトープを有するアナログを含む。完全hPD-L1配列は、GenBank Accession No. Q9NZQ7下に見ることができる。

10

【0055】

“対象”は、あらゆるヒトまたは非ヒト動物を含む。用語“非ヒト動物”は、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌおよびマウス、ラットおよびモルモットのような齧歯類のような脊椎動物を含むが、これらに限定されない。ある態様において、対象はヒトである。用語“対象”および“患者”は、ここでは、相互交換可能に使用される。

【0056】

薬物または治療剤の“治療有効量”または“治療有効用量”は、単独でまたは他の治療剤と組合せて使用したとき、対象を、疾患の発症から保護する、または疾患症状の重症度の低減、疾患無症状期間の頻度の増加および期間の延長または疾患罹患による機能障害または能力障害の予防により証明される疾患退縮を促進する薬物のあらゆる量である。治療剤が疾患退縮を促進する能力は、臨床試験中のヒト対象、ヒトにおける効果の予測となる動物モデル系またはインビトロアッセイにおける薬剤の活性のアッセイにおけるような、当業者に知られる多様な方法を使用して評価できる。

20

【0057】

ここで使用する用語“治療量以下の用量”または“治療量以下の有効量”は、過増殖性疾患(例えば、癌)の処置のために単独で投与したときの、治療化合物の通常のまたは典型的用量より低い、治療化合物(例えば、抗体)の用量をいう。例えば、抗PD1抗体(ニボルマブ)の治療量以下の用量は、該抗体の約3mg/kg未満の一用量である。

30

【0058】

選択肢(例えば、“または”)の使用は、選択肢の1つ、両者またはこの任意の組合せを意味すると理解すべきである。ここで使用する単数表現は、引用したまたは列挙した要素の“1以上”を意味すると理解すべきである。

【0059】

“抗癌剤”は、例えば、対象における癌退縮を促進する。他の態様において、治療有効量の薬物は、癌を排除するところまで癌退縮を促進する。“癌退縮促進”は、有効量の薬物の、単独または抗新生物剤との組合せの投与が、腫瘍増殖またはサイズの減少、腫瘍壊死、少なくとも1の疾患症状の重症度の低減、疾患無症状期間の頻度の増加および期間の延長または疾患罹患による機能障害または能力障害の予防をもたらすことを意味する。さらに、処置に関連する用語“有効”および“有効性”は、薬理学的有効性および生理学的安全性の両者を含む。薬理学的有効性は、患者における癌退縮を促進する薬物の能力をいう。生理学的安全性は、薬物の投与に起因する毒性のレベルまたは細胞、臓器および/または生物レベルでの他の有害生理作用(有害作用)をいう。

40

【0060】

腫瘍の処置の例として、治療有効量の抗癌剤は、未処置対象と比較して、細胞増殖または腫瘍増殖を好ましくは少なくとも約20%、より好ましくは少なくとも約40%、さらに好ましくは少なくとも約60%、なおさらに好ましくは少なくとも約80%阻害する。本発明の他の態様において、腫瘍退縮は、少なくとも約20日、より好ましくは少なくとも約40日またはさらに好ましくは少なくとも約60日の期間観察および継続され得る。

50

治療有効性のこれらの最終的測定値に関わらず、免疫療法剤の評価は、“免疫関連”応答パターンも考慮に入れなければならない。

【0061】

“免疫関連”応答パターンは、癌特異的免疫応答誘発によりまたは自然免疫過程修飾により、抗腫瘍効果を生じる免疫治療剤で処置した癌患者においてしばしば観察される臨床応答パターンである。この応答パターンは、伝統的化学療法剤の評価においては、疾患進行と分類され、薬剤無効と同義である、腫瘍負荷の最初の増加または新規病変の出現後の有利な治療効果により特徴付けられる。したがって、免疫治療剤の適切な評価は、これらの薬剤の標的疾患に対する効果の長期モニタリングを必要とし得る。

【0062】

治療有効量の薬物は、癌を発症するリスクのある対象(例えば、前悪性状態を有する対象)または癌の再発のリスクのある対象に単独でまたは抗新生物剤と組合せて投与したとき、癌の発症または再発を阻止する薬物のあらゆる量である、“予防有効量”を含む。ある態様において、予防有効量は、癌の発症または再発を完全に予防する。癌の発症または再発の“阻止”は、癌の発症または再発の可能性の低下または癌の発症または再発の完全な予防を意味する。

【0063】

選択肢(例えば、“または”)の使用は、選択肢の1つ、両者またはこの任意の組合せを意味すると理解すべきである。ここで使用する単数表現は、引用したまたは列挙した要素の“1以上”を意味すると理解すべきである。

【0064】

用語“約”または“本質的に含む”は、当業者により決定される、特定の値または組成物について許容される誤差範囲内である値または組成物をいい、これは、一部、どのように値または組成物が測定または決定されたか、すなわち、測定系の限界に依存する。例えば、“約”または“本質的に含む”は、当分野での実務に従う、1または1を超える標準偏差内を意味し得る。あるいは、“約”または“本質的に含む”は、最大10%または20%(すなわち、±10%または±20%)までの範囲を意味し得る。例えば、約3mg/kgは、2.7mg/kg~3.3mg/kg(10%では)または2.4mg/kg~3.6mg/kg(20%では)の間の任意の数を含み得る。さらに、特に生物学的系または過程に関して、本用語は、値の1桁内または5倍までを意味し得る。特定の値または組成物が本明細書および特許請求の範囲に記載されるとき、特に断らない限り、“約”または“本質的に含む”の意味は、その特定の値または組成物について許容される誤差範囲内であると想定すべきである。

【0065】

ここに記載するように、任意の濃度範囲、パーセンテージ範囲、比範囲または整数範囲は、特に断らない限り、引用した範囲内の任意の整数の値および、適切なとき、その分数(例えば、整数の1/10および1/100)を含むと理解すべきである。

【0066】

本発明の種々の面を、次のサブセクションにさらに詳述する。

【0067】

抗PD-1抗体

PD-1は、活性化T細胞およびB細胞により発現され、免疫抑制を仲介する重要な免疫チェックポイント受容体である。PD-1は、CD28、CTLA-4、ICOS、PD-1およびBTLAを含む受容体のCD28ファミリーのメンバーである。PD-1の2つの細胞表面糖タンパク質リガンド、プログラム死リガンド-1(PD-L1)およびプログラム死リガンド-2(PD-L2)が同定されており、これらは、抗原提示細胞ならびに多くのヒト癌で発現され、PD-1への結合によりT細胞活性化およびサイトカイン分泌を下方制御することが示されている。PD-1/PD-L1相互作用の阻害は、前臨床モデルにおいて強力な抗腫瘍活性に介在する。

【0068】

高親和性でPD-1と特異的に結合するHuMAbが、米国特許8,008,449号および8,779,105号に開示されている。他の抗PD-1 mAbは、例えば、米国特許6,808,710号、7,488,802号、8,168,757号および8,354,509号およびPCT公開WO2012/145493号に開示されている。米国特許8,008,449号に開示の抗PD-1 HuMAbの各々は、次の特徴の一つ以上を示す：(a)Biacore biosensor systemを使用する表面プラズモン共鳴により決定される 1×10^{-7} Mまたはそれ以下の K_D で、ヒトPD-1に結合する；(b)ヒトCD28、CTLA-4またはICOSと実質的に結合しない；(c)混合リンパ球反応(MLR)アッセイにおいてT細胞増殖を増加しない；(d)MLRアッセイにおいてインターフェロン- γ 産生を増加する；(e)MLRアッセイにおいてIL-2分泌を増加する；(f)ヒトPD-1およびカニクイザルPD-1と結合する；(g)PD-L1および/またはPD-L2のPD-1への結合を阻害する；(h)抗原特異的記憶応答を刺激する；(i)Ab応答を刺激する；および(j)インビボで腫瘍細胞増殖を阻止する。本発明において使用し得る抗PD-1 Abは、ヒトPD-1と特異的に結合し、前記特徴の少なくとも1つ、好ましくは少なくとも5つを示す、mAbである。

【0069】

ある態様において、抗PD-1 Abはニボルマブである。ニボルマブ(“オプジーボ(登録商標)”)としても知られ、以前は5C4、BMS-936558、MDX-1106またはONO-4538と指称された)は、PD-1リガンド(PD-L1およびPD-L2)との相互作用を選択的に阻止し、それにより、抗腫瘍T細胞機能の下方制御を遮断する完全ヒトIgG4(S228P)PD-1免疫チェックポイント阻害剤Abである(米国特許8,008,449号；Wang et al., 2014 Cancer Immunol Res. 2(9):846-56)。

【0070】

他の態様において、抗PD-1 Abはペンブロリズマブである。ペンブロリズマブ(“KEYTRUDA(登録商標)”)、ランブロリズマブおよびMK-3475としても知られる)は、ヒト細胞表面受容体PD-1(プログラム死-1またはプログラム細胞死-1)に対するヒト化モノクローナルIgG4抗体である。ペンブロリズマブは、例えば、米国特許8,354,509号および8,900,587号に記載され、<http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=695789>もまた参照のこと(最終アクセス：2014年12月14日)。ペンブロリズマブは、再発性または難治性黒色腫の処置のために、FDAにより承認されている。

【0071】

他の態様において、抗PD-1 AbはMED10608(以前はAMP-514)であり、これはモノクローナル抗体である。MED10608は、例えば、米国特許8,609,089B2号または<http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=756047>に記載されている(最終アクセス2014年12月14日)。

【0072】

ある態様において、抗PD-1抗体は、ピディリズマブ(CT-011)であり、これはヒト化モノクローナル抗体である。ピディリズマブは、米国特許8,686,119B2号またはWO2013/014668A1号に記載されている。

【0073】

本開示の方法において使用し得る抗PD-1 Abはまた、ヒトPD-1に特異的に結合し、ヒトPD-1への結合についてニボルマブと交差競合する、単離されたAbを含む(例えば、米国特許8,008,449号および8,779,105号；WO2013/173223号参照)。抗原への結合についてAbが交差競合する能力は、これらのAbが抗原の同じエピトープ領域に結合し、他の交差競合Abが当該特定エピトープ領域に結合するのを立体的に妨げることを示す。これらの交差競合Abは、PD-1の同じエピトープ領域へ結合する事実により、ニボルマブに極めて類似する機能的特性を有すると予測される。交差競合Abは、Biacore分析、ELISAアッセイまたはフローサイトメトリーのような標準的PD-1結合アッセイにおいてニボルマブに対して交差競合する能力に基

10

20

30

40

50

づき、容易に同定できる(例えば、WO 2 0 1 3 / 1 7 3 2 2 3 号参照)。

【0074】

ある態様において、ニボルマブとヒトPD-1の結合について交差競合するまたはヒトPD-1のニボルマブと同じエピトープ領域に結合するAbは、mAbである。ヒト対象への投与のために、これらの交差競合Abは、好ましくはキメラAbまたはより好ましくはヒト化またはヒトAbである。このようなキメラ、ヒト化またはヒトmAbは、当分野で周知の方法により製造し、単離できる。

【0075】

本発明の方法で使用し得る抗PD-1 Abは、上記Abの抗原結合部分も含む。Abの抗原結合機能は、完全長Abのフラグメントにより実行され得ることが十分に証明されている。Abの“抗原結合部分”なる用語に包含される結合フラグメントは、(i) V_L 、 V_H 、 C_L および C_{H1} ドメインからなる一価フラグメントであるFabフラグメント；(ii) ヒンジ領域でジスルフィド架橋により連結した2つのFabフラグメントを含む二価フラグメントである $F(ab')_2$ フラグメント；(iii) V_H および C_{H1} ドメインからなるFdフラグメント；および(iv) Abの単一アームの V_L および V_H ドメインからなるFvフラグメントを含む。

【0076】

抗CTLA-4抗体

本発明の抗CTLA-4抗体は、ヒトCTLA-4に結合してCTLA-4とヒトB7受容体の相互作用を妨害する。CTLA-4とB7の相互作用は、CTLA-4受容体担持T細胞を不活性化させるシグナルを伝達するため、相互作用の妨害は、このようなT細胞の活性化を効率的に誘発、増強または延長し、それにより免疫応答を誘発、増強または延長する。

【0077】

高親和性でCTLA-4に特異的に結合するHuMAbが米国特許6,984,720号および7,605,238号に開示されている。他の抗PD-1 mAbは、例えば、米国特許5,977,318号、6,051,227号、6,682,736号および7,034,121号に開示されている。米国特許6,984,720号および7,605,238号に開示されている抗PD-1 HuMAbは、次の特徴の一つ以上を示すことが証明されている：(a) Biacore分析により決定される、少なくとも約 $10^7 M^{-1}$ または約 $10^9 M^{-1}$ または約 $10^{10} M^{-1}$ ないし $10^{11} M^{-1}$ またはそれ以上の平衡結合定数(K_a)により示される結合親和性でヒトCTLA-4と特異的に結合する；(b) 少なくとも約 10^3 、約 10^4 または約 $10^5 m^{-1} s^{-1}$ の動的結合定数(k_a)；(c) 少なくとも約 10^3 、約 10^4 または約 $10^5 m^{-1} s^{-1}$ の動的解離定数(k_d)；および(d) CTLA-4のB7-1(CD80)およびB7-2(CD86)への結合を阻害する。本発明において使用され得る抗CTLA-4 Abは、ヒトCTLA-4に特異的に結合し、前記特徴の少なくとも一つ、そして好ましくは少なくとも3つを示す、mAbである。

【0078】

臨床使用されている抗CTLA-4 Abの例は、米国特許6,984,720号に開示されている、ヒトmAb 10D1(イピリムマブとして知られ、ヤーボイ(登録商標)として販売)である。イピリムマブは、ここに開示する方法において使用するための抗CTLA-4 Abである。イピリムマブは、CTLA-4のB7リガンドへの結合を遮断し、それによりT細胞活性化を刺激し、進行型黒色腫を有する患者の総生存期間(OS)を改善する完全ヒト、IgG1モノクローナルAbである。

【0079】

本方法において使用され得る他の抗CTLA-4 Abは、トレメリムマブ(CP-675,206としても知られる)である。トレメリムマブは、ヒトIgG2モノクローナル抗CTLA-4抗体である。トレメリムマブはWO/2012/122444号、米国公開2012/263677号またはWO公開2007/113648A2号に記載されている。

10

20

30

40

50

【0080】

ここに開示する方法において使用され得る抗CTLA-4は、ヒトPD-1と特異的に結合し、イピリムマブまたはトレメリムマブとヒトCTLA-4への結合について交差競合するまたはヒトCTLA-4のイピリムマブまたはトレメリムマブと同じエピトープ領域に結合する単離されたAbである。ある態様において、イピリムマブまたはトレメリムマブとヒトCTLA-4への結合について交差競合するまたはヒトCTLA-4のイピリムマブまたはトレメリムマブと同じエピトープ領域に結合するAbは、ヒトIgG1アイソタイプの重鎖を含むAbである。ヒト対象への投与のために、これらの交差競合Abは、好ましくはキメラAbまたはより好ましくはヒト化またはヒトAbである。有用な抗CTLA-4 Abはまた、Fab、F(ab')₂、FdまたはFvフラグメントのような上記Abの抗原結合部分を含む。

10

【0081】

腎癌の標準治療

本発明はまた、腎癌の処置のための抗PD-1抗体と標準治療の組合せ治療も含む。標準治療は、抗PD-1抗体処置の前、中途または後のあらゆる時点で対象に実施できる。いくつかの例において、標準治療およびPD-1抗体処置をさらなる処置とまた組合せる。種々のタイプの癌のための標準治療は、当業者に周知である。例えば、米国の21の主要な癌センターの連盟であるNational Comprehensive Cancer Network(NCCN)は、NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN GUIDELINES(登録商標))を出版し、これは、広範な癌の詳細な標準治療処置についての最先端情報を提供する(NCCN GUIDELINES(登録商標), 2014参照)。

20

【0082】

RCCは、成人の腎癌の最も一般的なタイプであり、腎臓腫瘍の約90%を占め、これらの80~90%が明細胞組織学である(NCCN GUIDELINES(登録商標) Version 3.2014 - Kidney Cancer参照)。RCCは、米国の全癌の約3%を占め、2014年に米国で推定63,920名の患者が腎癌と診断され、13,860が本疾患により死亡するとされている(Siegel et al., 2014)。転移は、診断時に対象の約30%で見られる。

【0083】

臨床的に局在のRCC(ステージIAおよびIB)に対しては、根治的腎摘出術および腎保存手術を含む外科的切除が有効な治療である。腎部分切除術は、局所進行性腫瘍(ステージIIおよびIII)を有する患者には一般に適さず、この場合、根治的腎摘出術が好ましい。腫瘍が腎臓実質に限局しているとき、5年生存率は60~70%であるが、これは、転移が拡散しているステージIV疾患では相当に下がる。ステージIV RCCは、患者は手術による利益を受け得るが、RTおよび化学療法にかなり抵抗性であり、外科的に切除可能な原発巣および切除可能な転移巣を有する患者では、全身治療前に、細胞削減的腎摘出術が推奨される。

30

【0084】

最近まで、サイトカインIL-2およびIFN α 、例えば、IFN-2bおよびPEG IFN-2bが、進行型または転移RCC(mRCC)の唯一の能動的全身処置であり、両者は、5~27%の奏効率(ORRs)を提供すると報告されていた。IL-2は、15%の永続的奏効率に基づき、承認された。しかしながら、低血圧(71%)、下痢(67%)、呼吸困難(43%)、発疹(42%)、上室性頻拍(12%)および多様な代謝障害および血液学的障害を含むかなりの毒性のために(Fyfe et al., 1995)、IL-2は、比較的若く、例外的な適格対象者のみに投与される。さらに、重度の急性毒性のために、その投与は、三次医療施設における集中治療環境下に限定される。IFN- α はRCCの処置に承認されておらず、IL-2およびIFN- α の限定的な臨床上的利益およびかなりの毒性プロファイルのために、より新しい標的化薬物が、進行型または転移腎細胞癌の処置において大きくサイトカインに置き換わった。

40

【0085】

明細胞RCCの病因における低酸素症誘導因子アルファ(HIF α)シグナル伝達の重要

50

性の認識は、1 L および 2 L 処置における二つのクラスの標的治療剤、抗血管形成 T K I および m T O R 阻害剤の広範な研究の端緒となった(Mulders, 2009)。血管形成のターゲティングは、構成的 H I F α 活性化が血管内皮細胞増殖因子(V E G F)を含む数種のタンパク質の上方制御または活性化を導き、これが続いて腫瘍増殖および新脈管構造形成に繋がり得るため、合理的である。さらに、V E G F 活性の遮断は、免疫環境を調節し、抗腫瘍応答を刺激し得る。m T O R 経路のターゲティングは、上流 P I 3 K / A k t / m T O R シグナル伝達経路の活性化が、構成的 H I F α の活性化または上方制御を起こす一つの手段であるため、重要である(Mulders, 2009)。

【0086】

血管形成を標的とする薬剤は、V E G F 受容体(V E G F r) T K I (例えば、ソラフェニブ、スニチニブ、パゾパニブ、アクシチニブおよびチボザニブ)および V E G F 結合 m A b (例えば、ベバシズマブ)を含み、m T O R 経路を標的とする薬剤は、m T O R 阻害剤(例えば、エベロリムスおよびテムシロリムス)を含む(Mulders, 2009; NCCN GUIDELINES(登録商標), Version 3.2014 - Kidney Cancer)。しかしながら、大部分の患者が抵抗性の最終的に進行性の疾患を発症するために永続性の応答は稀であり、O S 改善は、高リスク患者の1つのフェーズ3試験で示されているのみである：テムシロリムス(トーリセル(登録商標))は、I F N α と比較して、進行型 R C C の患者の O S に統計的に有意な利益を示した(10.9ヶ月対7.3ヶ月)(Hudes et al., 2007)。エベロリムス(アフィニトール(登録商標))は、プラセボに対して中央無増悪生存期間(P F S)の2.1ヶ月改善を示したが、O S 改善はなかった(Motzer et al., 2008)。承認された5つの抗血管形成剤(ソラフェニブ、スニチニブ、パゾパニブ、アクシチニブおよびベバシズマブ)および承認された2つのm T O R 阻害剤(テムシロリムス、エベロリムス)の中で、エベロリムスのみが抗血管形成治療での処置不成功の後に使用するために特に承認されている。米国において、エベロリムスは、スニチニブまたはソラフェニブでの第一選択処置の不成功後の進行型 R C C の処置のために指示され、E U では、エベロリムスは、疾患が V E G F 標的治療中または処置後に進行した進行型 R C C を有する患者のためにより広く指示される。m T O R 阻害剤で進行した患者についての推奨は存在しない。

【0087】

腎癌の免疫療法

複数のラインの標的化治療で進行している患者に有効な薬剤ならびに現在の標準処置を越える長い期間生存を延ばす治療に対する明確な要求が存在する。I L - 2 および I F N - α 以外の免疫療法に対するより新しいアプローチは、最近、有望であることが示されている。伝統的化学療法剤および放射線療法が期待外れであることが証明され、腎臓腫瘍が免疫応答を惹起できることが知られており、R C C は自然な退縮が最も一般的である腫瘍の一つであるために、免疫療法はm R C C の患者で最初に試験された(Elhilali et al., 2000; Inman et al., 2013)。現在、R C C の処置のための、T 細胞調節、免疫ブライミングおよび自然免疫を含む多様な免疫療法戦略が臨床開発中である(Rosenblatt and McDermott, 2011; Inman et al., 2013)。P D - 1 受容体またはその P D - L 1 リガンドを標的とする A b を使用して、T 細胞免疫抑制を逆転させる方法も、R C C の処置に非常に有望であることが証明されている(Topalian et al., 2012a; Brahmer et al., 2012; W O 2 0 1 3 / 1 7 3 2 2 3 号)。

【0088】

腎癌の組合せ免疫療法

薬剤、例えば抗 P D - 1 および抗 C T L A - 4 A b の組合せを含む免疫療法アプローチは、黒色腫の処置に高度に有効であることが証明されている(Wolchok et al., 2013; W O 2 0 1 3 / 1 7 3 2 2 3 号)。類推すれば、R C C 患者は、異なる免疫療法剤の組合せまたはこのような薬物と標的化薬剤または手術、放射線、標準的癌化学療法またはワクチンを含む他の処置の組合せから利益を受けることができる可能性がある。しかしながら、免疫療法を他の抗癌剤と組合せたとき、驚くべきかつ予想外の合併症が観察されることがある。例えば、B R A F V 6 0 0 E 変異を有する2名の黒色腫患者の抗 P D - 1 剤(

それぞれニボルマブおよびMK-3475)での第一選択治療は、顕著な毒性を生じなかったが、疾患進行時のベムラフェニブ(ゼルボラフ(登録商標))での処置は、ベムラフェニブ処置コースの初期に重度の過敏性薬疹と多臓器傷害をもたらした(Johnson et al., 2013)。一方の患者はその後急性炎症性脱髄性多発ニューロパチーを発症し、他方は低用量ベムラフェニブ再チャレンジによりアナフィラキシーを発症した。

【0089】

特にRCCに関して、IFN- α との組合せでのみ承認されているペバシズマブ(アバスチン(登録商標))を除き、mRCCの処置に今日まで承認されている全ての薬物は単剤療法として承認されている。この組合せは、IFN- α 単独を受けた患者と比較して、中央OSの有意な改善には至らず、グレード ≥ 3 高血圧およびタンパク尿の高い発生率をもたらすものの、許容される安全性プロファイルと組合せたPFSの改善に基づき承認された(Escudier et al., 2010; Rini et al., 2010)。スニチニブ+IFN- α (Motzer et al., 2009)、スニチニブ+IL-21 (Grunwald et al., 2011)、スニチニブ+トレメリムマブ(Rini et al., 2011)、ソラフェニブ+IFN- α (Escudier et al., 2007; Ryan et al., 2007; Gollob et al., 2007)およびソラフェニブ+IL-2 (Procopio et al., 2011)の治験を含む、抗血管形成治療+免疫療法の多くの他の組合せが臨床試験で評価されているが、顕著な毒性がしばしば観察されている。

【0090】

未処置mRCC対象におけるスニチニブ+IFN- α の使用を試験するフェーズ1試験において($n=25$)、全対象は、グレード3/4の試験治療下で発現したAE、最も一般的には好中球減少症、疲労および血小板減少症を経験した(Motzer et al., 2009)。低出用量が良好に耐容されたが、臨床活性は減少した。スニチニブ+IFN- α で見られた12%奏効率は、スニチニブ単独で見られた27.5%の歴史的奏効率より低かった。スニチニブ+IL-21も、未処置対象でフェーズ1試験において試験された($n=9$) (Procopio et al., 2011)。最大量のスニチニブと10mcg/kgのIL-21の組合せは、発現した血液学的用量制限毒性(DLT)に基づき、毒性が強すぎると考えられたが、低用量IL-21との組合せは、治療に適切であるとは考えられなかった。スニチニブ+トレメリムマブ(抗CTLA-4 Ab; Ribas, 2010; 米国特許6,682,736号)は、 ≤ 1 の全身前治療を受けているmRCCを有する28対象におけるフェーズ1用量漸増試験で試験された(Rini et al., 2011)。急激に発症した腎不全の予想外の毒性が、12週間毎の10mg/kgまたは15mg/kgトレメリムマブと組合せて連日スニチニブ37.5mgを受けていた4対象で観察された。43%部分寛解率が観察されたが、MTD(スニチニブ37.5mg連日+12週間毎のトレメリムマブ10mg/kg)の組合せの毒性は許容されないと見なされた。

【0091】

ソラフェニブとの組合せも、毒性が強すぎるか、ソラフェニブ単剤療法より有効ではないことが証明された。12名のmRCC対象を含む集団におけるソラフェニブ+IFN- α のフェーズ1試験は、最大量のスニチニブ+IFN-9MIUが十分に耐容性であり、1名のみが、グレード3無力症のDLTに遭遇し(Escudier et al., 2007)、続く2つのフェーズ2試験では、この組合せを使用したときに毒性が増加することが判明した(Ryan et al., 2007; Gollob et al., 2007)。未処置mRCCを有する62対象のスニチニブ+IFN- α のフェーズ2試験において、組合せで確認された奏効率(19%)は、いずれかの薬剤単独の歴史的奏効率より高かったが、77%の対象におけるグレード3またはそれより強い毒性を含む毒性の増加が、さらなる開発を制限した(Ryan et al., 2007)。40名の第一選択または第二選択対象におけるソラフェニブ+IFN- α のフェーズ2試験において、奏効率は33%であり、2名の完全寛解を含んだ(Gollob et al., 2007)。しかしながら、この組合せは、それぞれの薬物単独よりも高毒性であり、治療は、処置中断および用量低減した場合でのみ耐容性であった(65%の対象)。ソラフェニブ+皮下IL-2対ソラフェニブ単独が、未処置mRCCを有する128対象の無作為化フェーズ2試験で試験された(Procopio et al., 2011)。40対象の処置後、毒性のためにIL-2

10

20

30

40

50

用量を4.5 M I Uから3 M I Uに減らした。奏効率は、組合せアームがソラフェニブ単剤療法アームよりも高かったが(それぞれ27%対15%)、中央PFSは、2処置群で有意に異ならなかった。著者らは、有効性はソラフェニブ+IL-2の組合せの使用により改善されなかったと結論付けた。

【0092】

それゆえに、抗血管形成TKIを含む組合せレジメンは、いずれかの薬物の単剤療法と比較して、増加し、一般に許容されない毒性を伴わずに、RCCにおける有効性の改善を証明することができていない。黒色腫およびRCCにおける上記例は、免疫療法(抗CTLA-4または抗PD-1 Abのような免疫チェックポイント阻害剤を含む)と標的化抗癌治療(例えば抗血管形成TKI)の組合せが予想できず、臨床試験で安全性ならびに有効性を注意深く評価しなければならないことを明らかに示す。ニボルマブ(抗PD-1)とイピリマブ(抗CTLA-4)の組合せが、制御可能な毒性で黒色腫の処置に高度に有効であるが(Wolchok et al., 2013)、この組合せが、個々の薬剤よりもRCCおよび他の癌の処置においてヒト対象で有意に有効であるかどうか現在まで知られていない。

【0093】

医薬組成物および用量

本発明の治療剤は、組成物、例えば、AbまたはTKIおよび薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を構成し得る。ここで使用する“薬学的に許容される担体”は、生理学的に適合性である任意かつ全ての溶媒、分散媒体、コーティング、抗細菌および抗真菌剤、等張および吸収遅延剤などを含む。好ましくは、Abを含む組成物用の担体は静脈内、筋肉内、皮下、非経腸、脊髄または上皮投与(例えば、注射または点滴による)に適するものであり、一方TKIを含む組成物用の担体は、非経腸ではない、例えば、経口、投与に適するものである。本発明の医薬組成物は、1以上の薬学的に許容される塩、抗酸化剤、水性および非水性担体および/または防腐剤、湿潤剤、乳化剤および分散剤のようなアジュバントを含み得る。

【0094】

投与レジメンは、最適な所望の応答、例えば、最大治療応答および/または最小有害作用を提供するように調節する。他の抗癌剤との組合せを含み、抗PD-1 Abの投与のために、用量は、対象の体重の約0.01~約20 mg/kg、約0.1~約10 mg/kgの範囲であり得る。例えば、用量は、約0.1 mg/kg体重、約0.3 mg/kg体重、約1 mg/kg体重、約2 mg/kg体重、約3 mg/kg体重、約5 mg/kg体重または約10 mg/kg体重および約0.3 mg/kg体重、約1 mg/kg体重、約2 mg/kg体重、約3 mg/kg体重または約5 mg/kg体重であり得る。投薬スケジュールは、一般にAbの典型的薬物動態特性に基づき、持続性受容体占有率(RO)をもたらし暴露を達成するように設計する。代表的処置レジメンは、週1回、約2週間毎に1回、約3週間毎に1回、約4週間毎に1回、約1ヶ月に1回、約3~6ヶ月毎に1回またはそれより長い。ある態様において、ニボルマブのような抗PD-1 Abを、対象に約2週間毎に1回投与する。他の態様において、Abを、約3週間毎に1回投与する。用量およびスケジュールは、処置過程で変化し得る。例えば、抗PD-1単剤療法の投薬スケジュールは、Abの：(i) 6週サイクルで2週間毎；(ii) 4週間毎に6回、次いで3ヶ月毎；(iii) 3週間毎；(iv) 3~10 mg/kgを1回、続いて1 mg/kgを2~3週間毎の投与を含み得る。IgG4 Abが一般に2~3週間の半減期を有することを考慮して、本発明の抗PD-1 Abの投与レジメンは、静脈内投与での、約0.3~約10 mg/kg体重、好ましくは約1~約5 mg/kg体重、より好ましくは約1~約3 mg/kg体重を含み、Abは、14~21日毎に6週までまたは12週サイクルで、完全寛解または疾患進行が確認されるまで与えられる。

【0095】

他の癌の薬剤と組合せで使用したとき、抗PD-1 Abの用量は、単剤療法用量と比較して低くてよい。例えば、典型的な3週間毎に約3 mg/kgより顕著に低いニボルマブの用量、例えば約3週または4週間毎に約0.1 mg/kg以下は、治療量以下の用量と考えられる。ある態様において、治療量以下の用量は、約2 mg/kg、約1 mg/kg、約0.1 mg/kg

gまたは約0.01mg/kgである。ニボルマブの0.3mg/kg～10mg/kg投薬を受けた15対象からの受容体－占有率データは、PD－1占有率は、この用量範囲で用量非依存的であるように見えることを示す。全用量にわたって、平均占有率は85%(範囲、70%～97%)であり、平均プラトー占有率72%(範囲、59%～81%)であった(Brahmer et al., 2010)。それゆえに、約0.3mg/kg投薬は、最大生物活性をもたらすために十分な暴露を可能とし得る。

【0096】

2週間毎に10mg/kgまでの高ニボルマブ単剤療法投薬が、最大耐容量(MTD)に到達せずに達成されているが、チェックポイント阻害剤＋抗血管形成治療の他の治験で顕著な毒性が報告されており(例えば、Johnson et al., 2013; Rini et al., 2011参照)、10mg/kgより低いニボルマブ用量の選択を支持する。 10

【0097】

イピリムマブ(ヤーボイ(登録商標))は、黒色腫の処置に、3週間毎に1回、3mg/kgを4用量を静脈内投与で承認されている。それゆえに、ある態様において、約3mg/kgは、抗PD－1 Abと組合せて使用するイピリムマブの最高用量であるが、ある態様において、イピリムマブのような抗CTLA－4 Abは、ニボルマブと組合せたとき、約2週または3週間毎の約0.3～10mg/kg体重の範囲内で投薬され得る。承認されている3週間毎3mg/kgより有意に低いイピリムマブの用量、例えば約3週または4週間毎に約0.3mg/kg以下は、治療量以下の用量と考えられる。ある態様において、治療量以下の用量は約2mg/kg、約1mg/kg、約0.1mg/kgまたは約0.01mg/kgである。 20

【0098】

ニボルマブ3mg/kgおよびイピリムマブ3mg/kgの組合せ投薬が、黒色腫集団で最大耐容量(MTD)を超えることが示されているが、ニボルマブ1mg/kg＋イピリムマブ3mg/kgまたはニボルマブ3mg/kg＋イピリムマブ1mg/kgの組合せは、黒色腫患者で耐容性であることが判明した(Wolchok et al., 2013)。したがって、ニボルマブは、2週間毎に10mg/kgまで静脈内投与に耐容性であるが、ある態様において、抗PD－1 Abの用量は、イピリムマブと組合せたとき約3mg/kgを超えない。ある態様において、リスクベネフィットおよびPK－PD評価に基づき、使用する用量は、ニボルマブ約1mg/kg＋イピリムマブ約3mg/kg、ニボルマブ約3mg/kg＋イピリムマブ約1mg/kgまたはニボルマブ約3mg/kg＋イピリムマブ約3mg/kgの組合せであり、各々、約2～4週間毎に1回、約3週間毎に1回の投薬頻度で投与する。ある他の態様において、ニボルマブを、約0.1mg/kg、約0.3mg/kg、約1mg/kg、約2mg/kg、約3mg/kgまたは約5mg/kgの用量で、2週間毎に1回、3週間毎に1回または4週間毎に1回、約0.1mg/kg、約0.3mg/kg、約1mg/kg、約2mg/kg、約3mg/kgまたは約5mg/kgの用量で投与するイピリムマブと組合せて投与する。ある態様において、抗PD－1 Abと抗CTLA－4 Abの組合せを、対象に導入期に約2週または3週間毎に2回、3回または4回静脈内投与する。ある態様において、ニボルマブとイピリムマブの組合せを、導入期に約3週間毎に4回静脈内投与する。導入期の後に維持期があり、その間、抗PD－1 Abのみを対象に2または3週間毎に約0.1mg/kg、約0.3mg/kg、約1mg/kg、約2mg/kg、約3mg/kg、約5mg/kgまたは約10mg/kgの用量で、処置の効果が証明されている限りまたは制御不可能な毒性または疾患進行が生じるまで投与する。ある態様において、ニボルマブを、維持期の間、約2週間毎に約3mg/kg体重の用量で投与する。 30 40

【0099】

ニボルマブと他の抗癌剤の組合せについて、ある態様において、これらの薬剤を、その承認されている用量で投与できる。処置を、臨床上の利益が観察される限りまたは許容されない毒性または疾患進行が生じるまで続ける。それにもかかわらず、ある態様において、投与するこれらの抗癌剤の用量は、承認されている用量より有意に低く、すなわち、治療量以下の用量の薬剤を、抗PD－1 Abと組合せて投与する。抗PD－1 Abを、臨床試験で単剤療法として最高の有効性を生じることが示されている用量で投与でき、例えば、約3mg/kgのニボルマブを約3週間毎に1回または有意に低い用量、すなわち、治 50

療量以下の用量で投与する。

【0100】

TKIの投薬スケジュールは、種々のTKIにより変わる。例えば、スニチニブの通常の用量は、成人に50mgの一定用量を経口で1日1回食事と共にまたは食事なしでの投与を含み、個々の患者安全性および耐容性に基づき、約12.5mgの増量または減量での用量調節が推奨される。スニチニブは、4週間処置、続く2週間休薬のスケジュールで投与される。ある態様において、スニチニブは、1日1回約12.5mg、約25mg、約37.5mg、約50mg、約62.5mg、約75mg、約87.5mgまたは約90mgの用量で投与される。ソラフェニブは、成人患者に、食事の少なくとも1時間前または2時間後に、1日2回400mgの用量で経口で投与される。ある態様において、ソラフェニブは、1日2回約100mg、約200mg、約300mg、約400mg、約500mg、約600mgまたは約800mgの用量で投与される。パゾパニブは、患者に、1日1回、食事なし(食事少なくとも1時間前または2時間後)で800mgの用量で経口で投与される。ある態様において、パゾパニブは、1日1回約200mg、約400mg、約600mg、約700mg、約800mg、約900mgまたは約1000mgの用量で投与される。アクシチニブ(インライタ(登録商標))は、患者に、食事と共にまたは食事なしで約12時間離して1日2回約5mgの用量で経口で投与されるが、経口で1日2回約2mg、約3mg、約7または約10mgまで必要に応じて用量調節され得る。チボザニブはまだFDAにより承認されていないが、28日間の約1mgまたは1.5mg、好ましくは1.5mgの1日経口用量、続く14日間の休薬(Eskens et al., 2011)または21日間投薬と続く7日間の休薬が推奨される(Nosov et al., 2012)。ある態様において、チボザニブは、1日1回約0.5mg、約0.75mg、約1mg、約1.25mg、約1.5mg、約1.75mgまたは約2mgの用量で投与される。TKIと抗PD-1 Abの組合せ処置に関して、ある態様において、TKIは、その承認されたまたは推奨された用量で投与される。処置を、臨床的利点が観察される限りまたは許容されない毒性または疾患進行が生じるまで続ける。

【0101】

ある態様において、投与するTKIの用量は、承認されたまたは推奨された用量である。他の態様において、承認された用量より有意に低い用量、すなわち、治療量以下の用量のTKIを、抗PD-1 Abと組合せて投与する。抗PD-1 Abは、臨床試験において単剤療法として最高の有効性を生じることが示されている用量で投与してよく、例えば、約3mg/kgのニボルマブを3週間毎に1回(Topalian et al., 2012a; Topalian et al., 2012)または低用量、すなわち、治療量以下の用量で投与する。ある態様において、抗PD-1 Abを約0.1mg/kg、約0.3mg/kg、約1mg/kg、約2mg/kg、約3mg/kgまたは約5mg/kgの用量で投与し、TKIを約0.1mg、約0.5、約1、約2、約3、約5、約7.5、約10、約12.5、約15、約20、約30、約40、約50または約75mg/kgの用量で投与する。

【0102】

用量および頻度は、対象におけるAbの半減期により変わる。一般に、ヒトAbの半減期が最長であり、ヒト化Ab、キメラAbおよび非ヒトAbが続く。投与の用量および頻度は処置が予防的であるかまたは治療的であるかにより変わり得る。予防適用において、相対的に低用量が、一般に相対的に低頻度で長期間にわたり投与される。生きている限り処置を受ける患者もいる。治療的適用において、疾患の進行が減速するか停止するまで、好ましくは患者が疾患症状の部分的または完全改善を示すまで、相対的に短い間隔の相対的に高用量が、必要である場合がある。その後、患者に予防レジメで投与し得る。

【0103】

本発明の医薬組成物における活性成分の実際の用量レベルは、患者に過度の毒性とならずに、特定の患者、組成物および投与方法について所望の治療応答を達成するのに有効である活性成分の量とするために、変わり得る。選択した用量レベルは、用いる特定の本発明の組成物の活性、投与経路、投与の時期、用いる特定の化合物の排泄速度、処置期間、用いる特定の組成物と組合せて使用される他の薬物、化合物および/または物質、処置す

る患者の年齢、性別、体重、状態、一般的健康状態および先の薬歴および医薬分野で周知の同様な因子を含む多様な薬物動態因子の変動に依存する。本発明の組成物は、当分野で周知の1以上の多様な方法を使用して、1つ以上の投与経路により投与し得る。当業者には認識されるように、経路および／または投与方法は、所望の結果により変わる。

【0104】

本発明の方法

本発明は、腎癌を有する対象を処置する方法を提供する。ある態様において、本発明は、組合せ治療を投与することを含む、腎癌または腎癌を有する対象を処置する方法を含む。ある態様において、本方法は、対象に治療有効量の：(a) PD-1 受容体と特異的に結合し、PD-1 活性を阻害する Ab またはその抗原結合部分である抗癌剤；および (b) 10
他の抗癌治療剤の組合せを投与することを含む。ある態様において、本発明は、処置を必要とする対象における腎癌または腎癌を有する対象を処置する方法であって、対象に治療有効量の：(a) 抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分；および (b) 10
他の抗癌剤の組合せを投与することを含む、方法に関する。他の態様において、本発明は、腎癌または腎癌を有する対象を処置する方法に関し、該方法は、対象に治療有効量の：(a) 抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分；および (b) 10
ここに開示する標準治療を投与することを含む。RCC は腎臓腫瘍の約 90% を構成するため、ある態様において、腎癌は RCC である。他のある態様において、対象はヒト患者である。

【0105】

ある態様において、本発明は、処置を必要とする対象における腎癌または腎癌を有する対象を処置する方法に関し、該方法は、対象に、抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分 20
を投与することを含み、ここで、対象は他の抗癌剤で同時に処置される。他の態様において、本発明は、処置を必要とする対象における腎癌または腎癌を有する対象を処置する方法に関し、該方法は、対象に抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分を投与することを含み、ここで、対象はここに開示する標準治療で同時に処置される。RCC は腎臓腫瘍の約 20
90% を構成するため、ある態様において、腎癌は RCC である。他のある態様において、対象はヒト患者である。

【0106】

ある態様において、PD-1 抗体またはその抗原結合部分および／または抗 CTLA-4 抗体またはその抗原結合部分を、VEGF 受容体 (VEGFR) TKI (例えば、ソラフェニブ、スニチニブ、バゾパニブ、アクシチニブおよびチボザニブ)、VEGF 結合 mAb および阻害剤 (例えば、ベバシズマブ、アフリベルセプトおよび ziv-aflibercept)、mTOR 阻害剤 (例えば、エベロリムスおよびテムシロリムス)、サイトカイン (例えば、IFN- α 、IFN- β 2、ペグ化 IFN β 2 (Peg IFN- β 2) および IL-2) および有糸分裂阻害剤 (例えば、パクリタキセル、ドセタキセル、ビンクリスチン、エリブリン、エストラムスチン、エトポシド、イクサベピロン、カバジタキセル、ビンクリスチンリポソーム、ピノレルビン、ビンクリスチン、ビンブラスチンおよびテニポシド) からなる群から選択される、1 以上のさらなる抗癌剤と組合せて投与する。ある態様において、抗癌剤は、ここに記載する任意の他の薬剤である。ある態様において、本発明の治療 (例えば、抗 PD-1 抗体の投与または抗 PD-1 抗体と他の抗癌治療の投与) は、効率的に 30
対象の生存期間を延長する。例えば、対象の生存期間は、他の治療 (例えば、ベバシズマブまたはテモゾロミド) のいずれかのみで、または、組合せ治療の場合、組合せ治療の 2 40
メンバーのうち一方単独 (例えば、抗 PD-1 抗体単独) で処置された他の対象と比較したとき、少なくとも約 1 ヶ月、少なくとも約 2 ヶ月、少なくとも約 3 ヶ月、少なくとも約 4 ヶ月、少なくとも約 5 ヶ月、少なくとも約 6 ヶ月、少なくとも約 7 ヶ月、少なくとも約 8 ヶ月、少なくとも約 9 ヶ月、少なくとも約 10 ヶ月、少なくとも約 11 ヶ月または少なくとも約 1 年またはそれ以上延長する。ある態様において、生存期間は少なくとも約 2 ヶ月延長する。ある態様において、本発明の治療は、効率的に対象の無増悪生存期間を延長する。例えば、対象の無増悪生存期間は、未処置対象または他の治療のいずれかのみ (例えば、ベバシズマブまたはテモゾロミド) または、組合せ治療の場合、組合せ治療の 2 メン 50

バーのうち一方単独(例えば、抗PD-1抗体単独)で処置された対象と比較したとき、少なくとも約1ヶ月、少なくとも約2ヶ月、少なくとも約3ヶ月、少なくとも約4ヶ月、少なくとも約5ヶ月、少なくとも約6ヶ月、少なくとも約7ヶ月、少なくとも約8ヶ月、少なくとも約9ヶ月、少なくとも約10ヶ月、少なくとも約11ヶ月または少なくとも約1年延長する。ある態様において、無増悪生存期間は少なくとも約2ヶ月延長される。ある態様において、本発明の治療は、効率的に対象の群における奏効率を増加する。例えば、対象の群における奏効率は、他の治療のいずれかのみ(例えば、ペバシズマブまたはテモゾロミド)または、組合せ治療の場合、組合せ治療のふたつのメンバーのうち一方単独(例えば、抗PD-1抗体単独)、すなわち、単剤療法で処置された対象の他の群と比較したとき、少なくとも約2%、少なくとも約3%、少なくとも約4%、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約99%または少なくとも約100%増加させる。

10

【0107】

本発明方法において使用するのに適する抗PD-1および抗PD-L1抗体

本発明方法において使用するのに適する抗PD-1 Abは、PD-1と高特異性および親和性で結合し、PD-L1およびまたはPD-L2の結合を遮断し、PD-1シグナル伝達経路の免疫抑制性作用を阻害するAbである。ここに開示する治療法のいずれにおいても、抗PD-1または抗CTLA-4“抗体”は、それぞれPD-1またはCTLA-4受容体に結合し、リガンド結合を阻害し、免疫系を上方制御する完全Abに類似する機能的特性を示す、抗原結合部分またはフラグメントである。ある態様において、抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分は、ヒトPD-1との結合についてニボルマブと交差競合する。他の態様において、抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分は、キメラ、ヒト化またはヒトモノクローナルAbまたはその一部である。ヒト対象を処置するためのある態様において、Abはヒト化Abである。ヒト対象を処置するための他の態様において、AbはヒトAbである。IgG1、IgG2、IgG3またはIgG4アイソタイプのAbを使用し得る。

20

【0108】

ある態様において、抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分は、ヒトIgG1またはIgG4アイソタイプのものである重鎖定常領域を含む。ある他の態様において、抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分のIgG4重鎖定常領域の配列は、ヒンジ領域におけるセリン残基を、IgG1アイソタイプ抗体の対応する位置に通常見られるプロリン残基で置き換えるS228P変異を含む。ニボルマブに存在するこの変異は、野生型IgG4抗体と関係するFc受容体を活性化する低親和性を保持しながら、内在性IgG4抗体とのFabアーム交換を阻止する(Wang et al., 2014)。さらに他の態様において、Abは、ヒトカップまたはラムダ定常領域である軽鎖定常領域を含む。他の態様において、抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分はmAbまたはその抗原結合部分である。抗PD-1 Abの投与を含むここに記載する治療法のいずれかのある態様において、抗PD-1 Abはニボルマブである。他の態様において、抗PD-1 Abはペンブロリズマブである。他の態様において、抗PD-1 Abは、米国特許8,008,449号に記載のヒト抗体17D8、2D3、4H1、4A11、7D3および5F4から選択される。さらに他の態様において、抗PD-1 AbはMED10608(以前はAMP-514)、AMP-224またはピディリズマブ(CT-011)である。

30

40

【0109】

他の態様において、本発明は、癌を処置するために抗PD-1アンタゴニストまたは抗PD-1アンタゴニストをここに記載する1以上の抗癌剤と組合せて投与することを含む、処置を必要とする対象における腎癌または腎癌を有する対象を処置する方法を含む。ある態様において、腎癌はRCCである。ここでいう“抗PD-1アンタゴニスト”は、P

50

PD-1/PD-L1のシグナル経路が遮断されるように、PD-1(受容体)とPD-L1(リガンド)の相互作用を阻害するあらゆる分子を含む。PD-L1およびPD-L2は、同定されているPD-1の2つのリガンドである。ある態様において、抗PD-1アンタゴニストは抗PD-L1抗体である。PD-L1およびPD-L2は、PD-1への結合によりT細胞活性化を下方制御することが示されている。PD-L1およびPD-L2の両者は、PD-1に結合するが、他のCD28ファミリーメンバーに結合しないB7ホモログである。PD-L1は、多様なヒト癌で豊富であることが示されている。PD-1とPD-L1の相互作用は、腫瘍浸潤性リンパ球の減少、T細胞受容体仲介増殖の減少および癌性細胞による免疫回避をもたらす。免疫抑制は、PD-1とPD-L1の局所相互作用の阻害により回復でき、本効果は、PD-1とPD-L2の相互作用が同様に遮断されたとき相加的である。ある態様において、抗PD-L1 Abを、ここに開示する治療法のいずれにおいても抗PD-1 Abに置き換え得る。ある態様において、抗PD-L1 AbはBMS-936559(以前は12A4またはMDX-1105)である(例えば、米国特許7,943,743号;WO2013/173223号参照)。他の態様において、抗PD-L1 AbはMPDL3280A(RG7446としても知られる)(例えば、Herbst et al. 2013;米国特許8,217,149号参照)またはMED14736(Khelif, 2013)である。

10

【0110】

他の態様において、抗PD-1アンタゴニストは可溶性PD-1タンパク質である。他の態様において、抗PD-1アンタゴニストは、PD-1-Fc融合タンパク質である。ある態様において、PD-1-Fc融合タンパク質は、ここに記載するPD-1抗体のいずれかとIg Fcドメインの融合の結果である。ある態様において、Ig FcドメインはIgG、IgAまたはIgMドメインである。ある態様において、融合タンパク質は、化学合成または所望の融合タンパク質をコードするポリヌクレオチドの作製により產生できる。

20

【0111】

ある態様において、抗PD-1アンタゴニストは、PD-1とPD-L1の相互作用を阻害または阻止する抗PD-1融合タンパク質、アンチセンス分子、小分子、リボザイムまたはナノボディである。

【0112】

RCCを処置するための抗PD-1 Abと抗血管形成TKIの組合せ

30

RCCを処置するための本発明方法のある態様において、他の抗癌剤、すなわち、抗PD-1 Abと組合せて使用する抗PD-1 Ab以外の抗癌剤は抗血管形成TKIである。ソラフェニブ、スニチニブ、パゾパニブ、アクシチニブおよびチボザニブを含む、RCCの処置に承認されているまたは臨床試験において有効性が証明されている種々のTKIを、抗PD-1 Abとの組合せ治療法で使用し得る。しかしながら、これらの組合せの有効性および安全性が前臨床または臨床試験で評価されるまで、予想外の毒性があるかまたは単剤療法に対して有意に増強された有効性が生じ得ない可能性がある。RencaマウスRCCモデルにおけるここに開示する前臨床データは、抗PD-1 Abは、RCC腫瘍増殖の阻害にスニチニブと相乗的に作用するが、抗PD-1 Abとソラフェニブの組合せは、このマウスRCCモデルにおいてソラフェニブの低レベルの抗腫瘍活性を有意に増強しなかったことを示す(図1および2)。さらに抗PD-1 Abとスニチニブの組合せがマウスモデルにおけるRCCの処置に高度に有効であることを証明するために、ヒトRCC患者におけるこの組合せならびにニボルマブとパゾパニブの組合せの有効性および安全性を、臨床試験で確認している。

40

【0113】

実施例5は、mRCCを有する患者におけるスニチニブまたはパゾパニブと組合せたニボルマブの進行中のフェーズ1試験(NCT01472081;実施例4参照)の中間結果を提供する。データは、これらのTKIのいずれかと組合せたニボルマブが、これらの患者で有意に高い抗腫瘍活性および制御可能な安全性プロファイルを示すことを支持している(図12

50

参照)。したがって、本組合せ治療法のある態様において、抗血管形成TKIはスニチニブである。他の態様において、TKIはパゾパニブである。さらなる態様において、TKIはアクシチニブである。アクシチニブは、有利な毒性プロファイルを有し(Sonpavde et al., 2008)、一つの前の全身治療の失敗後の進行型RCCの処置についてFDAで承認されている、VEGF受容体1、2および3の高度に選択的な、強力な阻害剤である。他の態様において、TKIはソラフェニブである。さらに他の態様において、TKIはチボザニブである。チボザニブは、RCCの処置について臨床試験中の、VEGFR-1、-2および-3の強力な、選択的、長半減期阻害剤である。アクシチニブおよびチボザニブは、ここでの前臨床または臨床試験で試験されていない。しかしながら、スニチニブ、パゾパニブおよびソラフェニブの、標的外毒性を最小化しながらVEGFRを阻害する活性と重複する、全3VEGF受容体の高度に選択的な阻害に基づき、アクシチニブおよびチボザニブの両者は、ここに開示する治療法において抗PD-1 Abと組合せる優れた候補である。

10

【0114】

ある態様において、抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分および抗血管新生TKIの投与は、未処置対象または抗PD-1抗体または他の抗癌剤のいずれかの単剤療法で処置された対象と比較して、T細胞による癌組織の浸潤の増加をもたらす。実施例2に記載のように、組合せ治療は、例えば、CD4⁺およびCD8⁺T細胞の、腎臓腫瘍への局在化の増加を生じ得る。T細胞浸潤のこの増加は、未処置対象または抗PD-1抗体または他の抗癌剤のいずれかの単剤療法で処置された対象におけるT細胞浸潤レベルより、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%または少なくとも約90%大きい。ここに開示する方法は、さらに未処置対象または抗PD-1抗体または他の抗癌剤のいずれかの単剤療法で処置された対象と比較して、T細胞増殖を増加させ得る。T細胞増殖は、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%または少なくとも約90%される。ここに開示する方法はまた、ある態様において、未処置対象または抗PD-1抗体または他の抗癌剤のいずれかの単剤療法で処置された対象と比較して、T制御性細胞の減少を生じ得る。

20

【0115】

他の態様において、RCCを処置するための方法は、未処置対象または抗PD-1抗体または他の抗癌剤のいずれかの単剤療法で処置された対象と比較して、単球性骨髄由来サプレッサー細胞数を減少させるかまたは顆粒球性骨髄系細胞数を増加させる。ある態様において、単球性骨髄由来サプレッサー細胞は、CD11b⁺/Ly6C^{hi}/Ly6G⁻発現またはCD11b⁺/Ly6C^{low}/Ly6G⁻発現により特徴付けられる。他の態様において、顆粒球性骨髄系細胞はCD11b⁺/Ly6C⁻/Ly6G⁺発現により特徴付けられる。単球性骨髄由来サプレッサー細胞数は、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%または少なくとも約90%減少できる。顆粒球性骨髄系細胞数は、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%または少なくとも約90%増加できる。

30

40

【0116】

組合せ治療で使用する抗PD-1 Abおよび抗血管形成TKIの用量

本組合せ治療法のある態様において、抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分の治療有効量は、抗血管形成TKIと組合せて、静脈内注入により約週1回、約2週間毎に1回、約3週間毎に1回または約月に1回に投与する約0.1~約10.0mg/kg体重の範囲の用量の範囲を含む。ある態様において、抗PD-1 Abを、3週間毎に1回、2mg/kgの用量で投与する。他の態様において、抗PD-1 Abを、約3週間毎に1回、約5mg

50

／kgの用量で投与する。

【0117】

スニチニブの用量は、例えば、約25～約50mgの範囲の用量で、ある態様において50mgを、28日間の連日投与および14日間の休薬を含む42日サイクルで成人RCC患者へ投与し、臨床上的利益が観察される限りまたは制御不可能な毒性または疾患進行が生じるまで、サイクルを反復することを含む。あるいは、28日間の25～50mg用量の投与および14日間の休薬の後に、臨床上的利益が観察される限りまたは制御不可能な毒性または疾患進行が生じるまで、37.5mgのスニチニブの連日投与が続き得る。ある態様において、スニチニブを約5mg/kg体重、約10mg/kg体重、約15mg/kg体重、約20mg/kg体重、約25mg/kg体重、約30mg/kg体重、約35mg/kg体重、約40mg/kg体重、約45mg/kg体重、約50mg/kg体重、約55mg/kg体重、約60mg/kg体重、約65mg/kg体重、約70mg/kg体重または約75mg/kg体重の用量で投与する。

10

【0118】

パゾパニブを、抗PD-1 Abと組合せて、1日1回経口で約50mg、約100mg、約200mg、約300mg、約400mg、約500mg、約600mg、約700mgまたは約800mgの用量で投与する。ある態様において、パゾパニブを、1日1回、食事なしで推奨用量の800mgで投与する。

【0119】

抗PD-1 Abとの組合せで臨床試験されていないスニチニブおよびパゾパニブ以外のTKIの用量は、既知治療用量に基づく。それゆえに、ある態様において、ソラフェニブを、その推奨用量の1日2回400mgを経口で投与する。ある態様において、アクシチニブ(インライタ(登録商標))を、患者に、その推奨用量の5mgを、1日2回、約12時間離して経口で投与する。ある態様において、チボザニブを、その推奨経口1日用量の1.5mgで、28日間、続く14日間の休薬(Eskens et al., 2011)または21日間、続く7日間の休薬(Nosov et al., 2012)で投与する。

20

【0120】

ある態様において、ニボルマブを、各6週(42日)サイクルの1日目および22日目に静脈内注入により約2または約5mg/kg投与し、TKI、例えば、各42日サイクルの1～28日に約50mg経口で投与するスニチニブまたは各42日サイクルの1～42日に約800mg経口で投与するパゾパニブと組合せる。本方法に用いる他のTKIは、その承認されたまたは推奨された投与レジメンに従い投与する。処置を、臨床上的利益が観察される限りまたは許容されない毒性または疾患進行が生じるまで続ける。

30

【0121】

前臨床モデルで、例えば、抗PD-1とスニチニブで観察された相乗的相互作用は、これらの治療剤の一方または両方を、患者に治療量以下の用量で、すなわち、癌の処置について単剤療法として投与するときの通常のまたはFDA承認用量より有意に低い治療剤の用量で投与し得ることを示唆する。本発明のある態様において、抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分を、RCC患者に治療量以下の用量で投与する。他の態様において、TKIを、ここに記載する治療量以下の用量で投与する。さらなる態様において、抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分およびTKIを、各々、ここに記載する治療量以下の用量で投与する。

40

【0122】

抗PD-1抗体またはその抗原結合部分と他の抗癌剤の組合せ治療を、同時にまたは逐次的に(例えば、抗PD-1抗体またはその抗原結合部分を最初に投与し、他の抗癌剤を2番目に投与するまたは他の抗癌剤を最初に投与し、抗PD-1抗体またはその抗原結合部分を2番目に投与する)投与できる。

【0123】

RCCの処置のための抗PD-1 Abと抗CTLA-4 Abの組合せ

本開示はまた、RCCの処置のための組合せ治療法も提供し、ここで、抗PD-1 Abを、CTLA-4と特異的に結合し、CTLA-4活性を阻害するAbまたはその抗原

50

結合部分である他の抗癌剤と組合せる。抗PD-1 Abであるニボルマブと抗CTLA-4 Abであるイピリムマブの組合せが、ORRにより測定して、ニボルマブまたはイピリムマブ単独で観察される活性より有意に高いレベルの臨床活性を生じることがここで示されている(実施例6参照)。したがって、ある態様において、抗PD-1 Abと組合せて使用する抗CTLA-4 Abはイピリムマブである。ある態様において、抗CTLA-4 Abはトレメリムマブである。他の態様において、抗CTLA-4 Abまたはその抗原結合部分は、ヒトCTLA-4への結合についてイピリムマブと交差競合するAbまたはその一部である。ある他の態様において、抗CTLA-4 Abまたはその抗原結合部分は、キメラ、ヒト化またはヒトmAbまたはその一部である。さらに他の態様において、抗CTLA-4 Abまたはその抗原結合部分は、ヒトIgG1またはIgG4アイソタイプのものである重鎖定常領域を含む。ある態様において、抗CTLA-4 Abは、ヒトIgG1アイソタイプのものである重鎖定常領域を含む。

【0124】

抗PD-1と抗CTLA-4 Abの組合せについて、投薬レジメンは、抗PD-1および抗CTLA-4 Abの1回以上、好ましくは約4回の組合せ用量を患者に投与する間の導入期(ここでは導入相とも呼ぶ)、続いて抗PD-1 Ab単独の投薬、すなわち、抗CTLA-4 Abを含まない、維持期または相を含む。ある態様において、本方法は(a)抗PD-1および抗CTLA-4抗体またはその抗原結合部分を組合せて2、4、6、8または10用量投与し、各用量が少なくとも約2週間毎に1回、約3週間毎に1回または約4週間毎に1回投与する約0.1~約10.0mg/kg体重の範囲である導入期、および(b)これに続く、抗CTLA-4抗体またはその抗原結合部分を投与せず、抗PD-1抗体またはそのおおよび抗原結合部分を約0.1~約10mg/kgの用量で、少なくとも約2週間毎に1回、約3週間毎に1回または約4週間毎に1回反復して投与する維持期を含む。

【0125】

ある態様において、抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分を、治療量以下の用量で投与する。ある他の態様において、抗CTLA-4 Abまたはその抗原結合部分を、治療量以下の用量で投与する。さらなる態様において、抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分および抗CTLA-4 Abまたはその抗原結合部分の両者を、各々、治療量以下の用量で投与する。ある態様において抗PD-1 Abまたはその抗原結合部分および/または抗CTLA-4 Abまたはその抗原結合部分を、治療用量で投与する。

【0126】

ある態様において、(a)導入期は、3週間隔で少なくとも4回の投与を含み、ここで、抗PD-1および抗CTLA-4 Abを、次の用量で投与する：(i)0.1mg/kg抗PD-1 Abおよび3mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(ii)0.3mg/kg抗PD-1 Abおよび3mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(iii)1mg/kg抗PD-1 Abおよび3mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(iv)3mg/kg抗PD-1 Abおよび3mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(v)5mg/kg抗PD-1 Abおよび3mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(vi)10mg/kg抗PD-1 Abおよび3mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(vii)0.1mg/kg抗PD-1 Abおよび1mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(viii)0.3mg/kg抗PD-1 Abおよび1mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(ix)1mg/kg抗PD-1 Abおよび1mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(x)3mg/kg抗PD-1 Abおよび1mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(xi)5mg/kg抗PD-1 Abおよび1mg/kgの抗CTLA-4 Ab；または(xii)10mg/kg抗PD-1 Abおよび1mg/kgの抗CTLA-4 Abおよび(b)維持期は、抗PD-1 Abの2週間毎に3mg/kg用量での反復投与を含む。

【0127】

免疫チェックポイントの阻害による免疫療法で先に証明された臨床効果の永続性のために(例えば、WO2013/173223号参照)、維持期は、別の態様において、有限数の用量、例えば、1~10用量を含み得て、または長い間隔、例えば、約3~6ヶ月毎に

1 回または約 1 ～ 2 年毎に 1 回またはそれより長い間隔での投薬を含み得る。維持期は、臨床上の利益が観察される限りまたは制御不可能な毒性または疾患進行が生じるまで、継続し得る。

【0128】

過去の 12 週目に投与したイピリムマブの黒色腫に対する臨床上の利益への寄与の不確かさおよびヤーボイ(登録商標)について食品医薬品局(FDA)および欧州医薬品庁(EMA)が承認したスケジュールが 3 週間毎に計 4 回であることを考慮して、ある態様において、抗 CTLA-4 Ab を、導入期に 3 週間毎に 1 回計 4 回投与する。したがって、ある態様において、本方法は、(a) 4 組合せ用量の 3 週間隔での投与からなり、ここで、(i) 抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分を 3 mg/kg 体重で投与し、抗 CTLA-4 抗体またはその抗原結合部分を 1 mg/kg 体重で投与する；(ii) 抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分を 1 mg/kg 体重で投与し、抗 CTLA-4 抗体またはその抗原結合部分を 3 mg/kg 体重で投与する；または(iii) 抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分を 3 mg/kg 体重で投与し、抗 CTLA-4 抗体またはその抗原結合部分を 3 mg/kg 体重で投与する導入期；そして(b)維持期は、2 週間毎に 3 mg/kg の用量で抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分の反復投与を含む。これらの方法のさらなる態様において、維持期は、臨床上の利益が観察される限りまたは制御不可能な毒性または疾患進行が生じるまで継続する。

【0129】

本方法のある態様において、抗 PD-1 Ab はニボルマブである。他の態様において、それはペンブロリズマブである。さらに他の態様において、抗 CTLA-4 Ab はイピリムマブである。さらなる態様において、抗 CTLA-4 Ab はトレメリムマブである。一般に、抗 PD-1 および抗 CTLA-4 Ab は、静脈内投与用に製剤される。ある態様において、抗 PD-1 抗体またはその抗原結合部分と抗 CTLA-4 抗体またはその抗原結合部分の組合せを、同時に単一組成物としてまたは別々の組成物として投与する。ある態様において、抗 PD-1 および抗 CTLA-4 Ab を逐次的に投与する。ある態様において、抗 PD-1 および抗 CTLA-4 Ab を導入期の間逐次的に投与する。ある態様において、抗 PD-1 および抗 CTLA-4 Ab を組合せで投与するとき、それらを互いに 30 分以内に投与する。いずれの Ab が最初に投与されてもよく、すなわち、ある態様において、抗 PD-1 Ab を抗 CTLA-4 Ab の前に投与し、一方他の態様において、抗 CTLA-4 Ab を抗 PD-1 Ab の前に投与する。一般に、各 Ab を、60 分にわたる静脈内注入により投与する。ある態様において、抗 PD-1 および抗 CTLA-4 Ab を同時に、同時投与のための薬学的に許容される製剤に 1 個の組成物として混合してまたは薬学的に許容される製剤中に各 Ab を有する別々の組成物として同時に投与する。

【0130】

本方法のある態様は、(a) 3 週間毎の 4 組合せ用量の静脈内注入によるニボルマブの投与と、続くイピリムマブの静脈内注入による投与からなる導入期、および(b)これに続く、導入治療の 4 回目の投与の 3 週間後または導入治療の 4 回目の投与が処置遅延により投与されなかったならば、113 日目以後に開始する、2 週間毎に静脈内注入により投与するニボルマブでの維持投薬を含む。

【0131】

ある態様において、抗 PD-1 Ab またはその抗原結合部分、抗血管形成 TKI および抗 CTLA-4 Ab またはその抗原結合部分の組合せを、RCC の処置のために対象に投与できる。ある態様において、抗血管形成 TKI は、ソラフェニブ、スニチニブ、パゾパニブ、アクシチニブまたはチボザニブである。ある態様において、抗血管形成 TKI はスニチニブまたはパゾパニブである。他の態様において、抗 CTLA-4 Ab はイピリムマブまたはトレメリムマブである。ある特定の態様において、抗 PD-1 Ab またはその抗原結合部分、抗血管形成 TKI および抗 CTLA-4 Ab またはその抗原結合部分の組合せを、(i) 0.1 mg/kg 抗 PD-1 Ab および 3 mg/kg の抗 CTLA-4 Ab ；(ii) 0.3 mg/kg 抗 PD-1 Ab および 3 mg/kg の抗 CTLA-4 Ab ；(iii)

1 mg/kg抗PD-1 Abおよび3 mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(iv) 3 mg/kg抗PD-1 Abおよび3 mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(v) 5 mg/kg抗PD-1 Abおよび3 mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(vi) 10 mg/kg抗PD-1 Abおよび3 mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(vii) 0.1 mg/kg抗PD-1 Abおよび1 mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(viii) 0.3 mg/kg抗PD-1 Abおよび1 mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(ix) 1 mg/kg抗PD-1 Abおよび1 mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(x) 3 mg/kg抗PD-1 Abおよび1 mg/kgの抗CTLA-4 Ab；(xi) 5 mg/kg抗PD-1 Abおよび1 mg/kgの抗CTLA-4 Ab；または(xii) 10 mg/kg抗PD-1 Abおよび1 mg/kgの抗CTLA-4 Abから選択される用量で投与し、ここで、TKIを、ほぼその推奨用量で投与する。例えば、スニチニブを約25～約50 mgの範囲の用量、ある態様において50 mgの用量で投与でき；パゾパニブを約200 mg、約400 mgまたは約800 mgの用量で投与でき；ソラフェニブを約400 mg、1日2回の用量で投与でき；そしてチボザニブを、その推奨経口1日用量の1日約1.5 mgで投与できる。

10

【0132】

RCCの処置のための抗PD-1 Abと他の既知抗癌剤の組合せ

当業者は、抗PD-1抗体またはその抗原結合フラグメントでRCCを処置する、記載する方法を、RCCの他の既知処置と組合せることができることを認識する。例えば、抗PD-1 Abまたはその抗原結合フラグメントを、パクリタキセル、ドセタキセル、ビンクリスチン、エリブリン、エストラムスチン、エトポシド、イクサベピロン、カバジタキセル、ビンクリスチンリポソーム、ビノレルビン、ビンクリスチン、ビンブラスチンまたはテニポシドのような有糸分裂阻害剤と組合せることができる。上記のように、IFN- α またはIL-2を含む、種々のサイトカインも癌の処置に有用であることが知られている。抗PD-1 Abまたはその抗原結合フラグメントを、IFN- α 、IFN- β 2、ペグ化IFN β 2 (Peg IFN- β 2)またはIL-2のようなサイトカインと組合せ得る。ビンフルニンを含むが、これに限定されない当分野で知られる他の小分子処置も適し得る。ある態様において、抗PD-1抗体およびTKIまたは抗CTLA-4抗体の組合せ処置を含むここに記載する抗PD-1抗体を、SOC処置を含む、ここに記載する任意の他の処置と組合せて使用する。

20

【0133】

抗PD-1抗体を、特定の抗癌剤について標準的である投薬で、ここに記載する1以上の他の既知抗癌剤と組合せて投与できる。例えば、パゾパニブは、約400～約800 mgの用量で投与でき；アクシチニブは、約1 mg、約2 mg、約3 mg、約4 mg、約5 mg、約6 mg、約7 mg、約8 mg、約9 mgまたは少なくとも約10 mgの用量で投与でき；パクリタキセルおよび/またはドセタキセルは、約10 mg/m²、約25 mg/m²、約30 mg/m²、約35 mg/m²、約40 mg/m²、約45 mg/m²、約50 mg/m²、約75 mg/m²、約100 mg/m²、約125 mg/m²、約150 mg/m²、約175 mg/m²、約200 mg/m²、約225 mg/m²、約250 mg/m²、約275 mg/m²または少なくとも約300 mg/m²の用量で投与でき；ビンフルニンは、約50 mg/m²、約75 mg/m²、約100 mg/m²、約125 mg/m²、約150 mg/m²、約175 mg/m²、約200 mg/m²、約225 mg/m²、約250 mg/m²、約275 mg/m²、約300 mg/m²、約325 mg/m²、約350 mg/m²、約375 mg/m²、約400 mg/m²、約425 mg/m²、約450 mg/m²、約475 mg/m²または少なくとも約500 mg/m²の用量で投与できる。

30

40

【0134】

キット

治療使用のための抗PD-1 AbおよびTKIを含むキットも本発明の範囲内である。キットは、一般にキットの内容物の意図されている使用および使用指示のためのラベルを含む。用語ラベルは、キットに関してまたはキットと共に届けられるまたは他の方法でキットに添付される、文書または記録媒体を含む。したがって、本発明は腎癌に罹患している対象を処置するためのキットを提供し、キットは：(a) PD-1受容体に特異的に結

50

合し、PD-1 活性を阻害する Ab またはその抗原結合部分である 0.1 ~ 10 mg/kg 体重の範囲の用量の抗癌剤；(b)(i) 抗血管形成 TKI、例えば、4 週間投薬と続く 2 週間休薬のスケジュールの 1 日 1 回 12.5 mg、25 mg または 50 mg 用量のスニチニブ、1 日 1 回 200 mg、400 mg または 800 mg 用量のパゾパニブまたは 1 日 1 回または 2 回 400 mg の用量のソラフェニブである他の抗癌剤の一定用量；または(ii) 0.1 ~ 10 mg/kg 体重の用量範囲の CTLA-4 に特異的に結合し、阻害する抗体またはその抗原結合部分；および(c)ここに開示する組合せ治療法のいずれかにおいて抗 PD-1 Ab および他の抗癌剤を使用するための指示を含む。ある態様において、抗 PD-1、抗 CTLA-4 Ab および/または TKI は、単位用量形態に共包装され得る。ヒト患者の処置のためのある態様において、キットはここに開示する抗ヒト PD-1 Ab、例えば、ニボルマブまたはペンブロリズマブを含む。他の態様において、キットは、ここに開示する抗ヒト CTLA-4 Ab、例えば、イピリムマブまたはトレメリムマブを含む。

10

【0135】

本発明を、次の実施例によりさらに説明するが、これらはさらなる限定と解釈されてはならない。本明細書をとおして引用される全引用文献は、本明細書に明示的に包含させる。

【実施例】

【0136】

実施例 1

マウスモデルにおける抗 PD-1 および TKI での腎癌の処置

20

材料および方法

動物

雌 8 ~ 12 週齢 Balb/c および C57/BL6 マウス(Harlan Laboratories, Frederick, MD)を全試験で使用した。マウスを、特に断らない限り無菌マイクロアイソレーターケージで飼育し、無菌餌および水を自由に与えた。

【0137】

試薬

スニチニブ(スーテント(登録商標))は、腎細胞癌の処置について FDA で承認されている、いくつかの受容体チロシンキナーゼ(VEGFR-1、VEGFR-2 および VEGFR-3、PDGFR- α および β 、c-Kit、FLT-3、CSF-1R および RET を含む)を標的とする、経口投与可能な、小分子、多キナーゼ阻害剤である。スニチニブは、骨髄由来サプレッサー細胞の低減(Ko et al., 2009; Ko et al., 2010)および T 制御性サプレッサー細胞の低減(Hipp et al., 2008; Ozao-Choy et al., 2009)を含む、免疫調節効果を示すことが報告されている。

30

【0138】

ソラフェニブ(ネクサバル(登録商標))は、原発性腎癌(進行型腎細胞癌)、進行型原発性肝臓癌および放射性ヨウ素耐性進行型甲状腺癌の処置について FDA により承認されている、経口投与可能な、小分子多キナーゼ阻害剤(cRAF、bRAF、KIT、FLT-3、VEGFR-2、VEGFR-3 および PDGFR- β)である。ソラフェニブは、アポトーシスの誘発による T 細胞増殖阻害(Houben et al., 2009; Molhoek et al., 2009)、抗原特異的 T 細胞誘導低減および樹状細胞成熟低減が報告されている(Hipp et al., 2008)。

40

【0139】

抗 PD-1 mAb、4H2 は、精製され、 < 0.5 EU/mg 内毒素レベル、 $> 95\%$ 純度および $< 5\%$ 高分子量種を有することが証明されている、キメララットマウス抗マウス PD-1 Ab (米国特許 8,008,449 号)である。

【0140】

マウス腎癌(Renca)およびマウス結腸腺癌(CT-26)腫瘍細胞株は、インビトロで、10 継代未満で維持した。

【0141】

50

有効性試験

腫瘍細胞を皮下(S C)にインプラントした。平均腫瘍体積が約100mm³に達したとき、マウスを、8動物の群に無作為化した。媒体(対照)、スニチニブ(120mg/kg)またはソラフェニブ(200mg/kg)を、1日1回、14日間経口投与した(QD×14、PO)。MAb 4H2を、4日毎に10mg/kg、計4回(Q4D×4)、腹腔内(IP)投与した。腫瘍を週に2回測定し、腫瘍体積を、長さ×幅²/2として計算した。相乗作用は、最高単剤超過(E O H S A)として定義した、すなわち、抗腫瘍効果が、単剤療法で観察された効果より有意に大きいならば、組合せを相乗的と見なした(P<0.05、ウィルコクソンの符号順位検定)。

【0142】

結果

インプラントしたR C Cマウス腫瘍の中央体積に対する抗PD-1およびスニチニブまたはソラフェニブの単剤療法または組合せ治療としての処置効果を図1に示す。スニチニブ単剤療法は、このRencaマウスR C Cモデルで活性を示し、処置最終日まで85%の腫瘍増殖阻害(T G I)をもたらした(33日目;表1参照);しかしながら、腫瘍は、治療中止後、進行性に増殖した(図1参照)。単剤療法として投与したとき、抗PD-1 mAbはこのモデルで不活性であったが、抗PD-1とスニチニブの組合せは有意な抗腫瘍活性(101%のT G I)を生じ、インプラント後50日のモニタリングの最後までに完全腫瘍退縮(表1)または腫瘍増殖の著しい遅延(図1)をもたらした。同じモデルの2つの別々の試験で観察されたこれらの結果は、腫瘍増殖阻害におけるこの組合せの効果が、各治療剤個々により示される阻害レベルの合計よりもかなり大きいために、マウスR C C (Renca)腫瘍モデルにおけるニボルマブマウスサロゲート抗PD-1 mAbとスニチニブの相乗的相互作用を示す。

【0143】

対照的に、ソラフェニブ単剤療法はこのR C Cモデルで活性であったが(62% T G I;表1)、抗PD-1 mAbとソラフェニブの組合せ処置は、このマウスモデルでソラフェニブの抗腫瘍活性を有意に増加させず、相乗的有效性をもたらさなかった(図1)。

【0144】

図2は、腫瘍が500mm³の体積に到達するまでにかかった時間(日)を示す。図1におけるデータと一致して、抗PD-1/スニチニブ組合せで処置した腫瘍の増殖は有意に阻害され、これらの腫瘍は500mm³に到達するまで約63日かかり、対照、抗PD-1 A b、スニチニブ、ソラフェニブまたは抗PD-1/ソラフェニブ組合せで処置した腫瘍でかかった19~34日より有意に長かった。

【0145】

インプラント33日後に測定した腫瘍増殖阻害パーセンテージを表1に示す。これらのデータは図1および2に示すデータと一致し、抗PD-1とスニチニブの組合せにより腫瘍増殖が完全に阻害され、一方他の処置は低レベルの腫瘍増殖阻害をもたらしたことを確認する。抗PD-1とスニチニブの組合せにより示される抗PD-1とソラフェニブの組合せよりも優れた有効性は、ソラフェニブではなく、スニチニブが、癌患者の処置のための免疫療法アプローチとの組合せに適することを示唆する、それぞれスニチニブおよびソラフェニブが介在する異なる免疫調節効果と一致する(Hipp et al., 2008参照)。しかしながら、ヒト対象における抗PD-1とソラフェニブの組合せの効果は、マウスR C Cモデルで観察された効果を完全に反映するものではないかもしれず、この組合せは、ヒト患者の処置に高度に有効であり得る。

【0146】

10

20

30

40

【表 1】

表 1. インプラント 33 日後の試験治療剤が介在する腫瘍増殖阻害(TGI)および客観的奏効率

処置	%TGI	客観的応答(OR)
対照	—	—
スニチニブ(120mg/kg QD×14 D)	85	0/8
ソラフェニブ(200mg/kg QD×14 D)	62	0/8
抗PD-1 mAb 4H2(10mg/kg Q4D×4)	51	0/8
抗PD-1 mAb 4H2(10mg/kg Q4D×4)+スニチニブ(120mg/kg QD×14 D)	101	3/8 CR ; 2/8 PR
抗PD-1 mAb 4H2(10mg/kg Q4D×4)+ソラフェニブ(200mg/kg QD×14 D)	77	2/8 CR

10

CR = 完全退縮 ; PR = 部分退縮

20

【0147】

マウスの全体的体重に対する種々の処置の効果を図 3 に示す。抗 PD-1 とスニチニブの組合せは、マウスの体重減少がないことにより証明されるように十分に耐容性であった。抗 PD-1 とソラフェニブの組合せも十分に耐容性であったが、ソラフェニブとの組合せが、少なくはあるが、顕著な体重減少を引き起こしたため、抗 PD-1 とスニチニブの組合せより明らかにわずかに耐容性が低い。

【0148】

実施例 2

抗 PD-1 およびスニチニブでの処置後の腫瘍の免疫細胞浸潤

材料および方法

30

免疫組織化学およびフローサイトメトリー分析を使用して、腫瘍の免疫細胞浸潤を評価した。

【0149】

免疫組織化学

凍結切片をアセトン/メタノール混液で固定し、リン酸緩衝化食塩水(PBS)で濯いだ。切片を、内在性ペルオキシダーゼに対して遮断し、一次抗体(抗 CD8、抗 CD4、抗 FoxP3 および抗 PD-L1)を添加し、一夜インキュベートした。発色現像を、褐色ポリマーベース検出系(Biocare Medical)を使用して行い、ヘマトキシリンを、細胞核の可視化のための青色対比染色として使用した。

【0150】

40

フローサイトメトリーによる免疫表現型決定

腫瘍浸潤性免疫細胞を単離し、単細胞懸濁液として調製し、次いで、染色し、T細胞サブセット(調節性および活性化)および骨髄系細胞(すなわち、CD3、CD4、CD8、FoxP3、CD25 および CD69 の発現について)の発現についてフローサイトメトリーで分析した。

【0151】

結果

対照マウスにおいて、免疫組織化学(IHC)分析は、腫瘍末梢に CD4⁺ および CD8⁺ T細胞を検出した(図 4)。動物にスニチニブを投与したとき、優勢に末梢へのおよび血管構造に沿った CD4⁺ および CD8⁺ T細胞の流入があった。対照的に、マウスに抗 P

50

D-1 mAbとスニチニブの組合せを投与したとき、腫瘍全体にCD4⁺およびCD8⁺T細胞の大きな浸潤が観察された。抗PD-1 mAbとスニチニブの組合せは、各薬剤単独または対照媒体と比較して、腫瘍浸潤性CD4⁺およびCD8⁺T細胞の数を増やした(図4)。対照的に、対照群に対して、腫瘍への増加したT細胞浸潤は、抗PD-1 mAbまたはソラフェニブ単独でまたは抗PD-1 mAbとソラフェニブの組合せで見られなかった(データは示していない)。スニチニブおよびソラフェニブは免疫調節効果を示すことが示されており、これは、これらの薬剤を抗PD-1 Ab免疫チェックポイント阻害剤と組合せたときに見られる異なる治療効果に関係している可能性がある。

【0152】

腫瘍浸潤性免疫細胞のフローサイトメトリー分析は、スニチニブまたはソラフェニブと組合せて抗PD-1 mAbで処置した群での著しい差を示した(図5~7)。抗PD-1 mAbとソラフェニブの組合せと比較して、抗PD-1 mAbとスニチニブの組合せは、(i)増殖性CD4⁺/Ki67⁺、CD8⁺およびCD8⁺/Ki67⁺の大きな頻度($P < 0.05$; 図5および6); (ii)CD11b⁺/Ly6C^{hi}/Ly6G⁻により規定して単球性骨髓由来マクロファージ細胞($P < 0.05$)、CD11b⁺/Ly6C^{lo}/Ly6G⁻を発現する単球性細胞または両者のパーセンテージ減少($P < 0.05$; 図7); および(iii)顆粒球性骨髓系細胞CD11b⁺/Ly6C⁻/Ly6G⁺のパーセンテージ増加をもたらした($P < 0.05$; 図7)。それゆえに、スニチニブと抗PD-1 mAbの組合せでの処置は、有効な抗腫瘍免疫応答を支持し得る腫瘍微小環境の組成の変化を誘発した。少ない数のT制御性細胞(CD45⁺/CD4⁺/CD25⁺/FoxP3⁺)が実験群をとおして検出され、処置効果の決定を困難とした(データは示していない)。

【0153】

実施例3

抗原特異的免疫応答のインビボ細胞毒性の増強

材料および方法

細胞毒性アッセイ

AH1抗原を発現するCT26マウス結腸癌モデルを本実験に使用して、処置が抗原特異的T細胞に何らかの影響を有するか否かを決定した。CT26細胞のSCインプラント5日目、マウスを媒体で、または3日離して2回投与する抗PD-1 mAb 10mg/kg(Q3D×2)のIPで、1日1回5日のスニチニブ120mg/kg(QD×5)を伴いまたは伴わずに処置した。細胞死を、最終処置後2日目および4日目に調べた。

【0154】

アッセイ1日前に、未処置BALB/cドナーからの脾細胞をCT26ペプチド([H]PSYVYHQF [OH]; Sigma-Genosys)を伴いまたは伴わずにインキュベートし、5(6)-カルボキシフルオレセインジアセテートN-サクシニミジルエステル(CFSE、Sigma-Aldrich)で標識した。抗原刺激および非刺激細胞を合わせ(1:1)、処置マウスに注入した。細胞死のパーセンテージを、24時間後にフローサイトメトリーにより決定した。

結果

【0155】

CT26腫瘍モデルにおいて、抗PD-1 mAbとスニチニブの組合せは、抗原特異的免疫応答に対するインビボ細胞毒性の増加をもたらした(図8)。この増強された細胞毒性は、免疫応答成分の増加を示した。また腫瘍体積の減少とも相関した(図9)。

【0156】

実施例4

スニチニブ、パゾパニブまたはイピリムマブと組合せたニボルマブで転移RCCを処置するためのフェーズ1臨床試験

まとめて、実施例1~3に開示するデータはRCCを有する対象を処置するための、ニボルマブまたはペンブロリズマブのような抗PD-1 Abとスニチニブ、パゾパニブ、ソラフェニブ、アクシチニブまたはチボザニブのような抗血管形成TKIの組合せの研究

を支持した。これらのデータは、スニチニブの免疫調節特性が、有効な抗腫瘍免疫応答を支持する腫瘍微小環境の変化を起こし得て、これが抗PD-1 A bにより拡張および増強されることを示唆する。抗PD-1 mAbとソラフェニブの組合せ治療は、マウスRCCモデルでソラフェニブの抗腫瘍活性を有意に増強せず、相乗的有効性がもたらされなかったが(図1)、この組合せは良好に耐容され、ヒト患者で有効である可能性があった。スニチニブ、パゾパニブまたはイピリムマブと組合せたニボルマブの安全性および有効性は、現在、mRCCを有する対象における進行中のフェーズ1試験(NCT01472081)で評価中である。パゾパニブは、経口で利用可能な多キナーゼ阻害剤(VEGFR-1、VEGFR-2、VEGFR-3、PDGFR- α および β およびc-KIT)であり、ニボルマブとイピリムマブの組合せは、ニボルマブでの単剤療法と比較して、黒色腫の処置において有意に増強された有効性が示されている(Wolchok et al., 2013; WO 2013/173223号)。

10

【0157】

このフェーズ1試験の主要目的は、RCC患者における各組合せのMTDおよび推奨フェーズ2用量を決定するための、ニボルマブ+スニチニブ、パゾパニブまたはイピリムマブの全体的安全性および耐容性を評価することである。副次的目的は、組合せの予備的抗腫瘍活性の評価であり、探索的目的は、応答がベースラインPD-L1発現と相関するか否かの決定である。

【0158】

方法

20

試験デザイン

mRCCを有する対象におけるニボルマブ+スニチニブ、パゾパニブまたはイピリムマブのフェーズ1オープンラベル試験は進行中である。試験は、5平行処置アーム：ニボルマブ+スニチニブ(アームS)、ニボルマブ+パゾパニブ(アームP)、ニボルマブ3mg/kg+イピリムマブ1mg/kg(アームI-1)、ニボルマブ1mg/kg+イピリムマブ3mg/kg(アームI-3)およびニボルマブ3mg/kg+イピリムマブ3mg/kg(アームIN-3)を含む。アームSおよびアームPの処置は、用量漸増(先に処置された対象)と、続く用量拡張(未処置対象)の2部で実施されている。I-1アームおよびI-3アームの処置は、各アームが先に処置されたならびに未処置の対象の両者からなる、単一初期コホートである。アームI-1およびI-3の拡張コホートならびにアームIN-3は最小限に処置された(未処置を含む)対象からなる。アームSおよびアームPの試験デザインを図10Aに要約し、アームI-1、I-3およびIN-3の試験デザインを図10Bに要約する。

30

【0159】

試験集団

試験集団は、固形癌効果判定基準(RECIST)1.1により少なくとも1つの測定可能な病変を有する、明細胞成分を伴う組織学的に確認された転移腎細胞癌を有する ≥ 18 歳の対象である。RECIST 1.1により定義された測定可能な病変を有する非明細胞RCC対象を、アームSおよびアームPの用量漸増コホートのみに認める。有利なまたは中間リスクMSKCC(Memorial Sloan Kettering Cancer Center)予後スコアおよびカルノフスキー・パフォーマンス・ステータス(KPS) $\geq 80\%$ もアームS、PおよびI-1およびI-3オリジナルコホートに必要である(アームI-1およびI-3拡張およびIN-3について、あらゆるMSKCC予後スコアが許容される)。

40

【0160】

アームSおよびアームP

対象は、本試験の用量漸増部分に適格であるために、進行型/転移設定で少なくとも一つの先の全身治療レジメンを受けていなければならない。一方、本試験の用量-拡張部分について適格であるために対象は未処置でなければならない。先にパゾパニブを受けた用量漸増期に参加する対象は、ニボルマブ+スニチニブの投与に割り当て、一方、先にスニチニブを受けた対象は、ニボルマブ+パゾパニブの投与に割り当てた。先にパゾパニブおよびスニチニブを受けた対象は適格ではない。全身ステロイドまたは何らかの他の免疫抑制

50

性薬剤で慢性的に処置されている対象または抗PD-1、抗PD-L1または抗PD-L2、抗CD137、抗CTLA-4または類似の薬剤で先に処置された対象も試験から除外する。

【0161】

先にスニチニブまたはパゾパニブを受けていない対象は、用量漸増アームに登録可能であり、両方のアームがオープンであるとき、これらのアームに交互の様式で割り当てる。約36対象(18対象/アーム)が、試験の用量漸増部分で処置されるように予定される。この漸増コホートの完了時、MTDを、改変毒性確率区間(mTPI)デザインに基づき評価する。アームSまたはアームPのいずれかで、ニボルマブのMTDが<5mg/kgであると検出されたら、アームは、未処置対象における安全性データを収集するためにさらに拡張しない。スニチニブまたはパゾパニブと組合せたニボルマブのMTDが5mg/kg以上であると決定されたら、各アームにおける別の拡張コホートを、5mg/kg用量での登録のためにオープンする。アームSおよびアームPの拡張コホートにおいて、アームあたり約20未処置対象を処置するように、未処置対象のみを登録する。各処置サイクルは6週間であり、ニボルマブは1日目および22日目に投与し、抗血管形成治療をスニチニブ(1日50mg; 4週間投与、2週間休薬)およびパゾパニブ(1日800mg)の承認された添付文書に従い投与する。

【0162】

アームSおよびアームPの用量漸増

用量レベルを表2および3。ニボルマブの患者内用量漸増は許されない。

【表2】

表2. ニボルマブ+スニチニブの用量漸増の用量レベル

用量レベル	ニボルマブ(mg/kg)	スニチニブ(mg)
-1 ^a	0.3	50
1	2.0	50
2	5.0	50

^a 用量レベル-1は、用量レベル1からの減量が必要である場合のみ登録される

【0163】

【表3】

表3. ニボルマブ+パゾパニブの用量漸増の用量レベル

用量レベル	ニボルマブ(mg/kg)	パゾパニブ(mg)
-1 ^a	0.3	800
1	2.0	800
2	5.0	800

^a 用量レベル-1は、用量レベル1からの減量が必要である場合のみ登録される

【0164】

各用量漸増アームについてニボルマブの出発用量は2mg/kgである。最初に、アームあたり7適格対象を用量レベル1で処置する。さらなる対象を同じ用量レベルで処置するかまたは高用量レベル(5mg/kg)に増加するかの決定は、用量規制毒性(DLT)観察期間に観察されたDLTの数により導かれる。用量規制毒性以外の理由でDLT期間を完了しな

かった対象を交替する。用量レベル 1 (0.3 mg/kg) は、2 mg/kg の安全性および耐容性プロファイルが許容されないならば、考慮し得る。

【0165】

アーム S およびアーム P のフェーズ 1 用量漸増試験について、これらのアームにおける各用量のサンプルサイズは、観察された毒性および事後分布による。計 18 対象が、各アームの用量漸増相で処置されると予測される。しかしながら、交替のためにアームあたり 18 を越える対象であるか、低用量レベルでの毒性により、アームあたり 18 未満の対象であり得る。

【0166】

アーム S およびアーム P についての用量拡張

試験した全用量の安全性プロファイルおよび耐容性が特徴付けされ、ニボルマブ+スニチニブおよびニボルマブ+パゾパニブの組合せ投与の MTD がある処置アームについて規定されたら、MTD でのニボルマブ用量が 5 mg/kg 以上である場合のみ、そのアームでコホート拡張を 5 mg/kg で開始する。いずれかのアームにおいて、ニボルマブの MTD が < 5 mg/kg であると決定されたら、そのアームはさらに拡張しない。処置アームあたりさらに 20 対象を、スニチニブまたはパゾパニブと組合せたニボルマブについて 5 mg/kg 用量レベルで処置し、さらなる安全性情報を得る。

【0167】

アーム I-1 および I-3 (第一コホートについて)

前処置対象および未処置対象の両者が参加に適格であり、約 20 対象を各アームで処置するが、先に抗 PD-1、抗 PD-L1 または抗 PD-L2、抗 CD137、抗 CTLA-4 または他の類似薬剤で処置された対象は除外した。I-1、I-3 および IN-3 アームの用量を下の表 4 に詳述する。患者内用量漸増または減量はいずれの薬物でも許可されない。

【表 4】

表 4. ニボルマブ+イピリムマブの組合せの用量レベル

アーム	ニボルマブ(mg/kg)	イピリムマブ(mg/kg)
I-1	3.0	1.0
I-3	1.0	3.0
IN-3	3.0	3.0

【0168】

各処置サイクルは 6 週間である。ニボルマブおよびイピリムマブを 3 週間毎に 4 回投与し、次いでニボルマブを、導入治療の 4 回目の投与の 3 週間後または導入治療の 4 回目の投与が処置遅延により投与されなかったならば、113 日目以後に開始して、2 週間毎に投与する。

【0169】

I-1 および I-3 における対象の初期コホートにおいて、アームあたり約 20 対象が登録され、処置される。これらのアームを、安全性および有効性の良好な評価のために、各アーム計 45 対象まで拡張する(拡張コホートにおける各アームでさらに 25 対象)。

【0170】

アーム I-1、I-3 (拡張コホート) およびアーム IN-3 について

最小限処置された(未処置を含む)対象登録に適格であり、約 25 対象を各アームで処置する。各処置サイクルは 6 週間である。ニボルマブおよびイピリムマブを 3 週間毎に 4 回投与し、次いでニボルマブを導入治療の 4 回目の投与の 3 週間後または導入治療の 4 回目の投与が処置遅延により投与されなかったならば、113 日目以後に開始して 2 週間毎に投与する。

【0171】

先に処置された対象の処置アームへの割り当て

進行型または転移設定において先の処置を受けた対象を、上記のようにアーム S および P の用量漸増コホートに割り当てる。一つの全身前治療を受けている対象を、漸増期アーム S および／または P について、これらのアームがオープンであるときに認定されていない限り、少なくとも 2 つのイピリムマブ組合せアーム (I-1 および I-3) に、これらのアームの両者がオープンであるとき交互の様式で割り当てる。一方のアームのみがオープンであるとき、これらの対象をオープンアームに割り当てる。

【0172】

未処置対象の処置アームへの割り当て

全 4 アーム (拡張アーム S および P ; I-1 および I-3) が登録のためにオープンであるとき、未処置対象を、登録が完了するまでオープンアームに 1 : 1 : 1 : 1 比で無作為に割り当てる。

【0173】

最小限に処置された対象の処置アームへの割り当て

I-1 および I-3 拡張および IN-3 について、最小限に処置された (未処置を含む) 対象を、登録が完了するまでオープンアームの一つに、1 : 1 : 1 比で割り当てる。有害事象を NCI CTCAE v 4.0 に従い段階分けする。疾患評価を、最初の 4 つの評価について治験薬の最初の投与から 6 週間毎 (± 1 週間) に次いで、疾患進行まで 12 週間毎 (± 1 週間) に行う。応答評価を RECIST 1.1 に従い行う。アーム S およびアーム P の用量漸増相について、対象を、許容されない毒性、疾患進行までまたはインフォームドコンセントの撤回まで処置する。

【0174】

試験評価

安全性結果評価指標

組合せの安全性／耐容性結果評価指標および MTD の決定が、本試験の主要評価項目である。重要な安全性評価は、(1) 治験薬の最後の投与から 100 日後までに生じる有害事象 (AE) の発生 (または最後の投与から 100 日後までベースラインに回復しない、安定しない、戻らないまたは不可逆性であると考えられる薬物関連 AE についてはそれより長い)、(2) 治験薬の最後の投与から 100 日後までに生じる重度有害事象 (SAE) (または最後の投与から 100 日後までベースラインに回復しない、安定しない、戻らないまたは不可逆性であると考えられる薬物関連 SAE についてはそれより長い) および (3) 血液学、血清化学および尿検査を含む、最悪毒性グレードによる臨床検査の頻度 (アーム S およびアーム P についてはスクリーニング、ベースライン、サイクル 1～4 の 1 日目、8 日目、22 日目および 29 日目、サイクル 5 の 1 日目および 22 日目に評価；アーム I-1 およびアーム I-3 についてはスクリーニング、ベースライン、サイクル 1～2 の 1 日目、8 日目、22 日目および 29 日目、サイクル 3+ の 1 日目、15 日目および 29 日目に評価；全アームで処置終了時および最後の投与 100 日後のフォローアップ来院に評価)。

【0175】

有効性結果評価指標

抗腫瘍活性は、本試験の二次評価項目であり、RECIST 1.1 に基づく客観的奏効率 (ORR) および応答期間 (DOR) により測定する。腫瘍応答は、最初の 4 評価についてはスクリーニング、治験薬の最初の投与から 6 週間毎 (± 1 週間) および疾患進行まで 12 週間毎 (± 1 週間) の腫瘍評価に基づく。

【0176】

実施例 5

S アームおよび P アームで示された抗腫瘍活性

7 対象を、アーム S N2 および S N5 の各々で処置し、進行または許容されない毒性まで、S (50 mg、4 週間投与、2 週間休薬) と組合せてニボルマブ (それぞれ 2 mg/kg または 5 mg/kg) を受けた。DLT は観察されず、MTD に達しなかった。それゆえに、耐容性に基づき、S N5 アームを、19 のさらなる未処置患者に拡張した (S アームに

10

20

30

40

50

ついて計 $n = 33$)。アーム P は、20 対象を N2 で登録し、P (1 日 800 mg) と組合せた 2 mg/kg ニボルマブを受けた。4 つの 4 D L T (A L T / A S T 上昇 [$n = 3$]、疲労 [$n = 1$]) が観察され、このアームの閉鎖に到った。実施した用量漸増を図 11 に説明する。

【0177】

S N2 アームにおける 7 対象、S N5 アームにおける 26 対象および P N2 アームにおける 20 対象を、2014 年 3 月のデータベースロックまで応答について評価した。臨床活動 (O R : 確認された完全 [C R] または部分 [P R] 応答) が、表 5 に示すように全アームで観察された。スニチニブおよび 2 mg/kg ニボルマブで処置した評価可能な対象の数は少ないが (7 患者)、これらのうち 1 名 (14 %) が完全寛解、5 名 (71 %) が部分応答および 1 名 (14 %) が安定な疾患を有した。スニチニブおよび両濃度のニボルマブ (2 mg/kg および 5 mg/kg) で処置した 33 の評価可能な対象全体で、18 名 (55 %) が確認された客観的応答 (O R) を示した。パゾパニブおよび 2 mg/kg ニボルマブで処置した 20 名の評価可能な対象のうち、9 名 (45 %) が確認された O R を示した。応答は、応答対象で 41 % (アーム S) および 56 % (アーム P) が最初の評価 (6 週間) までに起こった。O R R および対応する両側正確 95 % C I を、Clopper and Pearson の方法により計算した。

【0178】

【表 5】

表 5. ニボルマブおよびスニチニブまたはパゾパニブで処置した R C C 患者の腫瘍
応答

	SUN+NIV2(N=7)	SUN+NIV5(N=26)	SUN+NIV(N=33)	PAZ+NIV2(N=20)
BOR				
CR, n(%)	1(14)	0	1(3)	0
PR, n(%)	5(71)	12(46)	17(51)	9(45)
未確認CR, n	0	0	0	0
未確認PR, n(%)	0	0	0	0
SD, n(%)	1(14)	9(35)	10(30)	7(35)
PD, n(%)	0	1(4)	1(3)	4(20)
UD, n(%)	0	4(15)	4(12)	0
確認されたORR (A), n(%)	6(86)	12(46)	18(55)	9(45)
95%CI	(42.1-99.6)	(26.6-66.6)	(36.4-71.9)	(23.1-68.5)
全体的ORR(B), n(%)	6(86)	12(46)	18(55)	9(45)
95%CI	(42.1-99.6)	(26.6-66.6)	(36.4-71.9)	(23.1-68.5)
中央DOR, 週 (95%CI)			66.3 (18.1-118+) ^a	30.1 (12.1-117.11+) ^b

B O R : 最良全体的応答 ; C R : 完全寛解 ; P R : 部分応答 ; S D : 安定な疾患 ; P D : 疾患進行 ; U D : 決定不可能 ; C I : 信頼区間 ; (A) : C R のみ ; (B) : C R + 未確認応答 ; 未確認応答 : 最後の腫瘍評価で腫瘍応答を有した進行中の対象 ; D O R : 応答期間。

【0179】

応答期間はアーム S で 18.1 ~ 118 ++ 週およびアーム P で 12.1 ~ 117.1 ++ 週であった。安定な疾患率はアーム S で 30 % ($n = 10$) およびアーム P で 35 % ($n = 7$) であった。中央応答期間および対応する両側 95 % C I を、カプラン・マイヤー法を使用して決定した。

【0180】

SアームおよびPアームにおける評価可能な対象の腫瘍負荷に対する効果を、レーダーチャート(図12A-C)およびウォーターフォールプロット(図12D)により説明する。

【0181】

PAZ+NIV2アームの45%からSUN+NIV2アームの86%の範囲の、表5に示す確認されたORRは、ニボルマブまたはスニチニブまたはパゾパニブ単剤療法で見られるORRより有意に高い。例えば、WO2013/173223号は、フェーズ1試験でRCCの処置についてニボルマブ(1mg/kgまたは10mg/kg)単独で約28~31%のORRを報告している。より最近の分析において、Motzer et al.(2014)は、転移RCCの処置のフェーズ2試験で、それぞれ0.3mg/kg、2mg/kgおよび10mg/kgで患者に投与されたニボルマブの20%、22%および20%のORRを報告する。Choueiri et al.(2014)は、1~3の先の抗血管形成治療で前処置された転移RCC患者において0.3mg/kg、2mg/kgおよび10mg/kgで投与されたニボルマブが9%、23%および22%のORRを生じ、10mg/kgニボルマブは、未処置患者で13%のORRを生じると報告する。TKIについて、スニチニブ単独で約27.5%(例えば、Motzer et al., 2007; 2013参照)およびパゾパニブ単独で約30%(例えば、Sternberg et al., 2010; Motzer et al., 2013参照)の歴史的ORRが観察されている。

【0182】

最初の評価(6週間)で、Sアームにおける17対象中7対象(41.2%)が応答者であり、Pアームにおける9対象中5対象(55.6%)が応答者であった。進行中の応答者は、Sアームにおいて17対象中10対象(58.8%)およびPアームにおいて9対象中3対象(33.3%)を含む。

【0183】

SアームおよびPアームにおける無増悪生存期間

無増悪生存期間(PFS)の比率対時間のプロットを図13に示す。24週目のPFSの比率はアームSで79%およびアームPで55%であった。Sアーム(S+N; n=33)の中央PFSは55.3週間(95%CI 47.9-72.4週間)およびPアーム(P+N; n=20)は31.4週間(95%CI 12.1-48.1週間)であった。

【0184】

ベースラインPD-L1発現による客観的奏効率

腫瘍組織コレクションは、後向きであった(Sアームで33サンプルがおよびPアームで20サンプルが利用可能であった)。表面PD-L1発現を、ウサギ抗ヒトPD-L1 mAb、28-8を使用するDako免疫組織化学アッセイにより測定した(WO2013/173223号)。ポジティブPD-L1シグナルのカットオフは、腫瘍膜染色の1%または5%であった。PD-L1発現状態に従い分類した2アームの患者で観察されたORRを表6に示す。

【0185】

【表 6】

表 6. ニボルマブおよびスニチニブまたはパゾパニブの組合せで処置された R C C 患者における客観的奏効率(ORR)およびPD-L 1 腫瘍発現状態

アーム	PD-L 1 カットオフ	PD-L 1 状態	ORR ^a 、n/N(%)
S	1%腫瘍膜染色	+	6/15(40.0)
		—	10/14(71.4)
	5%腫瘍膜染色	+	1/5(20.0)
		—	15/24(62.5)
P	1%腫瘍膜染色	+	3/7(42.9)
		—	5/10(50.0)
	5%腫瘍膜染色	+	1/2(50.0)
		—	7/15(46.7)

10

^a PD-L 1 評価可能な患者の ORR ; ORR は、RECIST により決定して完全または部分応答者を含む。

【0186】

20

これらのデータは、ニボルマブおよびスニチニブまたはパゾパニブの組合せに対する R C C 患者の応答が、PD-L 1 の腫瘍発現と相関しないことを示す。

【0187】

S アームおよび P アームにおける有害事象

グレード 3～4 関連有害事象(AE)が、アーム S の 27/33 患者(82%)およびアーム P の 14/20 患者(70%)で観察された。大部分の毒性は、TKI の既知プロファイルと一致した。最も一般的な関連グレード 3～4 AE はアーム S で ALT 上昇および高血圧(各 18%)、低ナトリウム血症およびリンパ球数減少(各 15%)およびアーム P で ALT および AST 上昇および下痢(各 20%)および疲労(15%)であった。グレード 3 間質性肺炎が 1 患者(アーム S、N5)で生じた。グレード 3～4 関連 AE は、アーム S で 11/33 患者(33%; 3 N2、8 N5)およびアーム P で 4/20 患者(20%)を治療中断させた。グレード 5 処置関連 AE は観察されなかった。肝毒性は、処置アルゴリズムを使用して制御可能であった。

30

【0188】

全体として、臨床データは、ニボルマブとスニチニブの組合せが、mRCC を有する患者において有望な抗腫瘍活性および制御可能な安全性プロファイルを示すことを示す。アーム P は DLT により閉鎖した。

【0189】

実施例 6

イピリムマブアームで示された抗腫瘍活性

40

mRCC を有する患者(有利なまたは中間 MSKCC スコア; カルノフスキー・パフォーマンス・ステータス $\geq 80\%$; 未処置または先の免疫腫瘍学処置以外、あらゆる数の先の治療)を種々の処置アームに無作為化した。1mg/kg イピリムマブおよび 3mg/kg ニボルマブ(I-1 アーム)で処置した 47 対象、3mg/kg イピリムマブおよび 1mg/kg ニボルマブ(I-3 アーム)で処置した 47 対象および 3mg/kg イピリムマブおよび 3mg/kg ニボルマブ(IN-3)で処置した 6 対象が応答について評価可能であった。大部分の患者(n = 54; 54%)は、先の全身治療を受けていた(I-1: 22; I-3: 26; IN-3: 3)。表 7 に示すように OR が I-1 および I-3 アームで観察された。ORR および対応する両側正確 95% CI を、Clopper and Pearson の方法により計算した。全体として、I-1 アームにおける 16(34%)患者が確認された OR を示し、I-3 アームにお

50

ける 17 (36%) 患者が確認された OR を示した。

【0190】

これらの ORR は、ニボルマブ単独 (WO 2013/173223 号; Motzer et al., 2014; Choueiri et al., 2014; 実施例 5 参照) またはイピリムマブ単独で見られる ORR より有意に高い。フェーズ 2 試験での転移 RCC 患者のイピリムマブ単剤療法での処置は、コホート A (3 mg/kg 負荷用量、続く 1 mg/kg を 3 週間毎) における 5% およびコホート B (全用量について 3 mg/kg を 3 週間毎) における 12.5% の ORR をもたらししたが、これら 2 群の特徴に不同性があり、有効性の直接比較は妨げられた (Yang et al., 2007)。

【0191】

中央応答期間 (DOR) は I-3 アームで 53.9 週間であり、I-1 アームでは到達しなかった。最良の全体的応答としての安定な疾患 (SD) が、19 (40%) (I-1) および 18 (38%) (I-3) 患者で見られた。

【0192】

評価可能な対象の腫瘍負荷に対する効果をレーダーチャート (図 14A-C) およびウォーターフォールプロット (図 14D) で説明する。S アーム、P アームおよび I アームで処置された対象についてのウォーターフォールプロットの比較を図 15 に示す。

【0193】

【表 7】

表 7. ニボルマブおよびスニチニブまたはパゾパニブで処置された RCC 患者における腫瘍応答

	IPI1+NIV3(N=47)	IPI3+NIV1(N=47)	IPI3+NIV3(N=6)
BOR, n(%)			
CR	1(2)	1(2)	0
PR	15(32)	16(34)	0
未確認CR	0	0	0
未確認PR	2(4)	3(6)	0
SD	19(40)	18(38)	5(83)
PD	9(19)	7(15)	1(16.7)
UD	1(2)	2(4)	0
確認されたORR(A), n(%)	16(34)	17(36)	0
95%CI	(20.949.3)	(22.7-51.5)	
全体的ORR(B), n(%)	18(38)	20(43)	0
95%CI	(24.5-53.6)	(28.3-57.8)	
中央PFS, 週(95%CI)	30.3(4.7+, 72.6+)	36.0(4.1, 77.9+)	NR(7.0, 28.1+)
24週PFS, %(95%CI)	NC	NC	NC
中央DOR, 週	NR	53.9	NC
(範囲) ^a 週間	(4.1+-67.1+)		(6.1+-66.0+)
進行中の応答, %(n/N)	94(15/17)	71(12/17)	

BOR: 最良全体的応答; CR: 完全寛解; PR: 部分応答; SD: 安定な疾患; PD: 疾患進行; UD: 決定不可能; CI: 信頼区間; (A): CRのみ; (B): CR+未確認応答; 未確認応答: 最後の腫瘍評価で腫瘍応答を有した進行中の対象; PFS: 無増悪生存期間; DOR: 応答期間; NR: 到達せず; ^a 進行中の応答の高いパーセンテージのため、中央DORは誤解され得る。応答期間は、最初の応答日から疾患進行または死亡日(どちらか最初に起きたほう)の間の期間である。

【0194】

I-1 および I-3 アームにおける無増悪生存期間

10

20

30

40

50

PFSの比率対時間のプロットを図16に示す。中央PFSはI-1アームで30.3週間であり、I-3アームで36.0週間であった。PFS率は、カプランマイヤー法で概算し、対応する95%CIはGreenwood式に基づき導いた。

【0195】

ベースラインPD-L1発現による客観的奏効率

腫瘍組織サンプルを遡及的に集め、表面PD-L1発現をmAb、28-8を使用するDako免疫組織化学アッセイにより測定した(WO2013/173223号)。ポジティブPD-L1シグナルのカットオフは、腫瘍膜染色の1%または5%であった。PD-L1発現状態に基づき分類した種々の患者で観察されたORRを表8に示す。

【表8】

表8. ニボルマブとイピリムマブの組合せで処置したRCC患者における客観的奏効率(ORR)およびPD-L1腫瘍発現状態

PD-L1カットオフ	PD-L1状態	ORR ^a , n/N (%)
1%腫瘍膜染色	+	11/33 (33.3)
	-	18/55 (32.7)
5%腫瘍膜染色	+	3/14 (21.4)
	-	26/74 (35.1)

^a PD-L1評価可能な患者のORR；ORRはRECISTにより決定して完全または部分応答者を含む。

【0196】

これらのデータは、ニボルマブとイピリムマブの組合せに対するRCC患者の応答は、PD-L1の腫瘍発現と相関しないことを示す。

【0197】

I-1およびI-3アームにおける有害事象

グレード3～4関連有害事象(AE)がI1、I3およびIN-3アームのそれぞれで16/47(34%)、30/47(64%)および5/6(83%)観察された。I1およびI3アームでそれぞれ5(11%)および10(21%)が、関連AEのために処置を中止した。IN-3アームでは有害事象により中止した患者はいなかったが、しかしながら全6患者が免疫介在有害事象の処置のためにステロイドを必要とし、さらなる患者をIN3アームに登録しなかった。最も一般的なグレード3～4関連有害事象はリパーゼ上昇(20%、n=20)、ALT上昇(11%、n=11)、下痢(9%、n=9)およびAST上昇を含む(6%、n=6)。グレード3～4間質性肺炎は見られなかった。

【0198】

全体として、ニボルマブおよびイピリムマブは、確立された処置ガイドライン内で制御可能な許容される安全性の、グレード3～4事象およびmRCCにおける有意な抗腫瘍活性の有望な証拠を示し、大部分の応答が進行中である。ORRは、先にRCCにおいてニボルマブまたはイピリムマブ単剤療法で報告されていたより大きな活性を示唆する(Topalian et al., 2012a; Motzer et al., 2014; Choueiri et al., 2014; Yang et al., 2007)。I-1アームでは中央応答期間は得られなかった。一部の患者は治療終了後も応答し続け、このレジメンに対する免疫記憶成分を示唆する。初期および拡張コホートを、IN-3アームと共に評価し続ける。ニボルマブ+イピリムマブ組合せで報告される有望な抗腫瘍活性が、第一選択mRCCにおける計画されるフェーズIII組合せ治験の基礎である。

【0199】

引用文献

Amin et al. (2014) Nivolumab (anti-PD-1; BMS-936558, ONO-4538) in combination wi

10

20

30

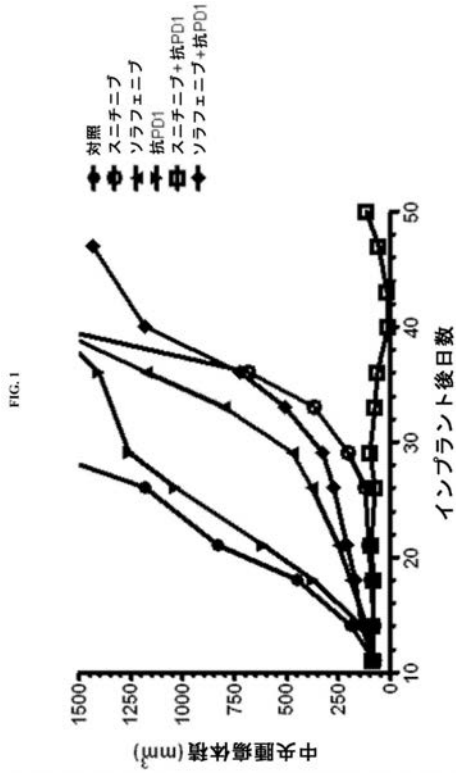
40

50

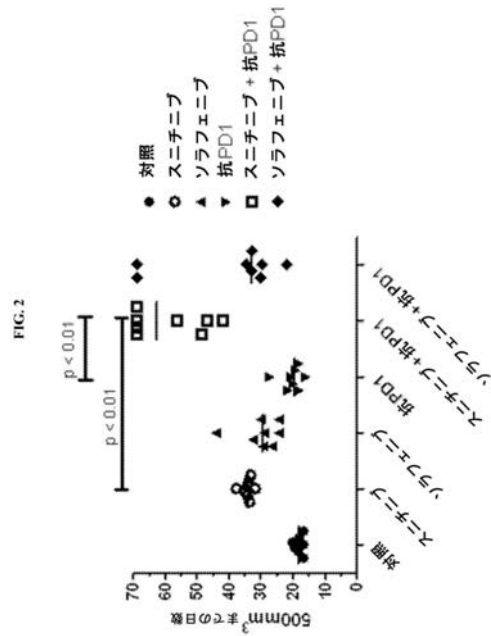
- th sunitinib or pazopanib in patients (pts) with metastatic renal cell carcinoma (mRCC). *J Clin Oncol* 32:5s, (suppl; Abstract 5010, Clinical Science Symposium).
- Blank et al. (2005) *Cancer Immunol. Immunother.* 54:307-314.
- Brahmer et al. (2010) *J Clin Oncol* 28:3167-75.
- Brahmer et al. (2012) *N Engl J Med* 366:2455-65.
- Carter et al. (2002) *Eur J Immunol* 32:634-43.
- Choueiri et al. (2014) Immunomodulatory activity of nivolumab in previously treated and untreated metastatic renal cell carcinoma (mRCC): Biomarker-based results from a randomized clinical trial. *J Clin Oncol* 32:5s, (suppl; Abstract 5012, Clinical Science Symposium). 10
- Dong et al. (2002) *Nat. Med.* 8:787-9.
- Dong et al. (2003) *J. Mol. Med.* 81:281-7.
- Drake et al. (2013) *BJU Int* 112(Supplement 3):1-17.
- Elhilali et al. (2000) *BJU Int* 86:613-8.
- Escudier et al. (2007) *Clin Cancer Res* 13(6):1801-1809.
- Escudier et al. (2010) *J Clin Oncol* 28(13):2144-50.
- Eskens et al. (2011) *Clin Cancer Res* 17(22):7156-63.
- Flies et al. (2011) *Yale J Biol Med* 84:409-21.
- Freeman et al. (2000) *J Exp Med* 192:1027-34.
- Fyfe et al. (1995) *J Clin Oncol* 13(3):688-96. 20
- Gollob et al. (2007) *J Clin Oncol* 25(22): 3288-95.
- Grunwald et al. (2011) *Acta Oncol* 50(1):121-126.
- Gupta et al. (2008) *Cancer Treat Rev* 34(3):193-205.
- Hamid and Carvajal (2013) *Expert Opin Biol Ther* 13(6):847-61.
- Hamid et al. (2013) *N Engl J Med* 369:134-144.
- Hammers et al. (2014) Phase I study of nivolumab in combination with ipilimumab in metastatic renal cell carcinoma (mRCC). *J Clin Oncol* 32:5s, (suppl; Abstract 4504, Oral Abstract Session).
- Heng et al. (2009) *J Clin Oncol.* 27:5794-9.
- Herbst et al. (2013) *J Clin Oncol* 31(suppl; Abstract 3000). 30
- Hipp et al. (2008) *Blood* 111:5610-20.
- Hodi et al. (2010) *N Engl J Med* 363:711-23.
- Houben et al. (2009) *Mol Cancer Ther* 28:433-40.
- Hudes et al. (2007) *N Engl J Med* 356(22):2271-81.
- Inman et al. (2013) *Eur Urol* 63:881-9.
- Konishi et al. (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:5094-100.
- Johnson et al. (2013) *Cancer Immunol Res* 1:373-77.
- Khleif (2013) In: *Proceedings from the European Cancer Congress 2013; September 27-October 1, 2013; Amsterdam, The Netherlands. Abstract 802.*
- Ko et al. (2009) *Clin Cancer Res* 15:2148-57. 40
- Ko et al. (2010) *Cancer Res* 70:3526-36.
- Konishi et al. (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:5094-100.
- Latchman et al. (2001) *Nat Immunol* 2:261-8.
- McDermott and Atkins (2013) *Cancer Med* 2(5):662-73.
- Molhoek et al. (2009) *Cancer Immunol Immunother* 58:867-76.
- Motzer et al. (2007) *N Engl J Med* 356:115-24.
- Motzer et al. (2008) *Lancet* 372:449-56.
- Motzer et al. (2009) *Clin Genitourin Cancer* 7(1):28-33.
- Motzer et al. (2013) *N Engl J Med* 369:722-31.
- Motzer et al. (2014) Nivolumab for metastatic renal cell carcinoma (mRCC): Resul 50

- ts of a randomized, dose-ranging phase II trial. *J Clin Oncol* 32:5s, (suppl; Abstract 5009, Clinical Science Symposium).
- Mulders (2009) *BJU Int* 104:1585-89.
- NCCN GUIDELINES(登録商標) (2014), available at: http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp#site, last accessed May 30, 2014.
- Nosov et al. (2012) *J Clin Oncol* 30(14):1678-85.
- Ozao-Choy et al. (2009) *Cancer Res* 69:2514-22.
- Pardoll (2012) *Nat Rev Cancer* 12:252-64.
- PCT Publication No. WO 2012/145493, published October 26, 2012 by Amplimmune, Inc. 10
- PCT Publication No. WO 2013/173223, published November 21, 2013 by Bristol-Myers Squibb Co.
- Procopio et al. (2011) *Br J Cancer* 104(8):1256-1261.
- Ribas (2010) *Semin Oncol* 37(5):450-4.
- Rini et al. (2010) *J Clin Oncol* 28(13): 2137-43.
- Rini et al. (2011) *Cancer* 117:758-67.
- Rosenblatt and McDermott (2011) *Hematol Oncol Clin North Am* 25:793-812.
- Ryan et al. (2007) *J Clin Oncol* 25(22):3296-301.
- Siegel et al. (2014) *CA Cancer J Clin* 64(1):9-29.
- Sjoblom et al. (2006) *Science* 314:268-74. 20
- Sonpavde et al. (2008) *Expert Opin Investig Drugs* 17(5):741-8.
- Sternberg et al. (2010) *J Clin Oncol* 28(6):1061-8.
- Topalian et al. (2012a) *N Engl J Med* 366:2443-54.
- Topalian et al. (2012b) *Curr Opin Immunol* 24:207-12.
- Topalian et al. (2014) *J Clin Oncol* 32(10):1020-30.
- USAN Council Statement (2013) Pembrolizumab: Statement on a nonproprietary name adopted by the USAN Council (ZZ-165), November 27, 2013.
- U.S. Patent No. 5,977,318, issued November 2, 1999 to Linsley et al.
- U.S. Patent No. 6,051,227, issued April 18, 2000 to Allison et al.
- U.S. Patent No. 6,682,736, issued January 27, 2004 to Hanson et al. 30
- U.S. Patent No. 6,808,710, issued October 26, 2004 to Wood et al.
- U.S. Patent No. 6,984,720, issued January 10, 2006 to Korman et al.
- U.S. Patent No. 7,034,121, issued April 25, 2006 to Carreno et al.
- U.S. Patent No. 7,605,238, issued October 20, 2009 to Korman et al.
- U.S. Patent No. 7,488,802, issued February 10, 2009 to Collins et al.
- U.S. Patent No. 7,943,743, issued May 17, 2011 to Korman et al.
- U.S. Patent No. 8,008,449, issued August 30, 2011 to Korman et al.
- U.S. Patent No. 8,168,757, issued May 1, 2012 to Finnefrock et al.
- U.S. Patent No. 8,217,149, issued July 10, 2012 to Irving et al.
- U.S. Patent No. 8,354,509, issued January 15, 2013 to Carven et al. 40
- Yang et al. (2007) *J Immunother* 30(8):825-30.
- Wang et al. (2014) In vitro characterization of the anti-PD-1 antibody nivolumab, BMS-936558, and in vivo toxicology in non-human primates, *Cancer Imm Res*, in press.
- Wolchok et al. (2013) *N Engl J Med* 369(2):122-33.

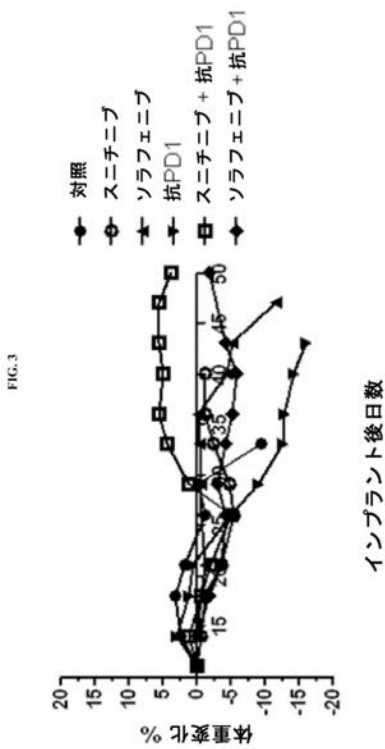
【図 1】



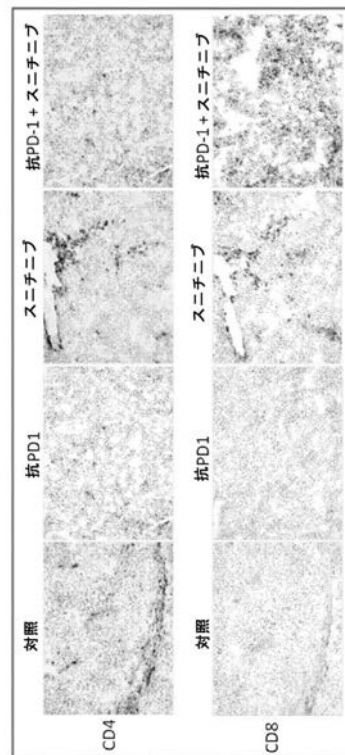
【図 2】



【図 3】

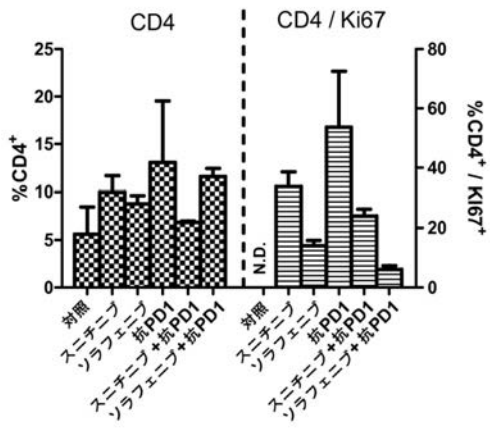


【図 4】



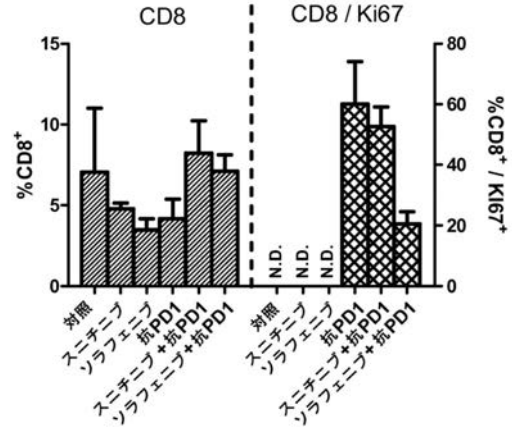
【図 5】

FIG. 5



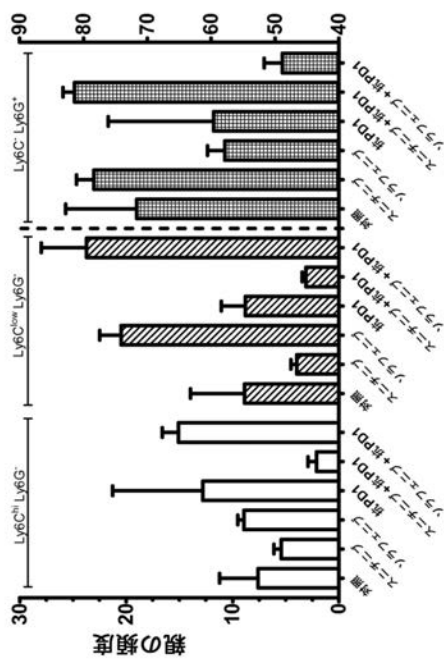
【図 6】

FIG. 6



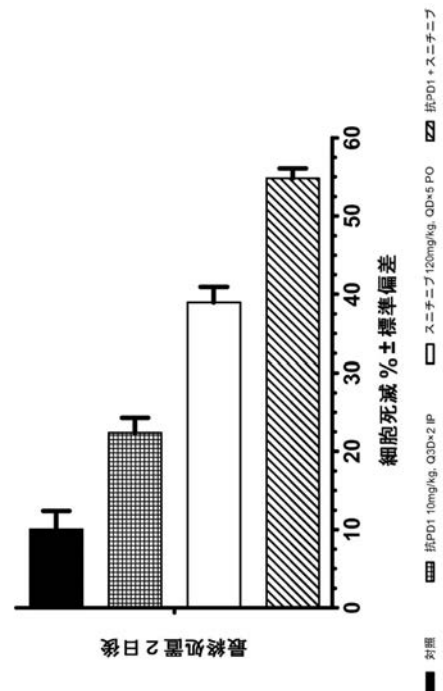
【図 7】

FIG. 7

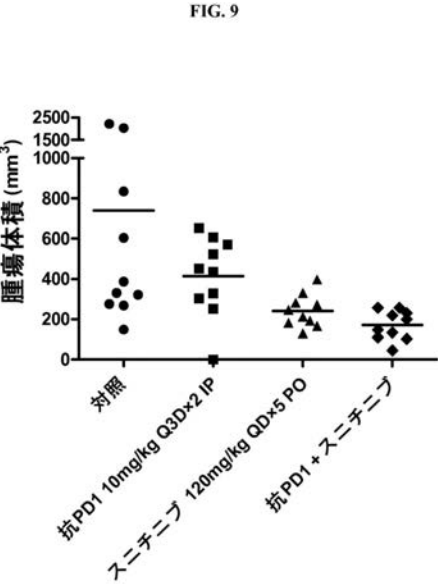


【図 8】

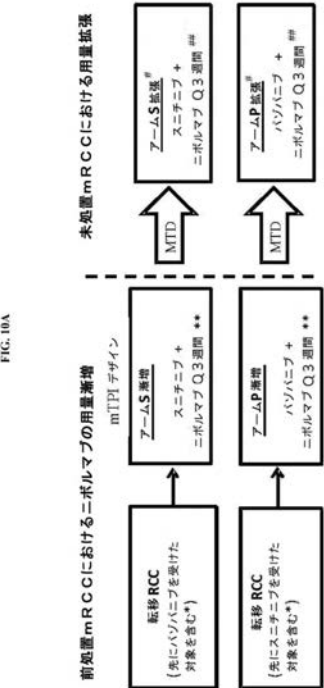
FIG. 8



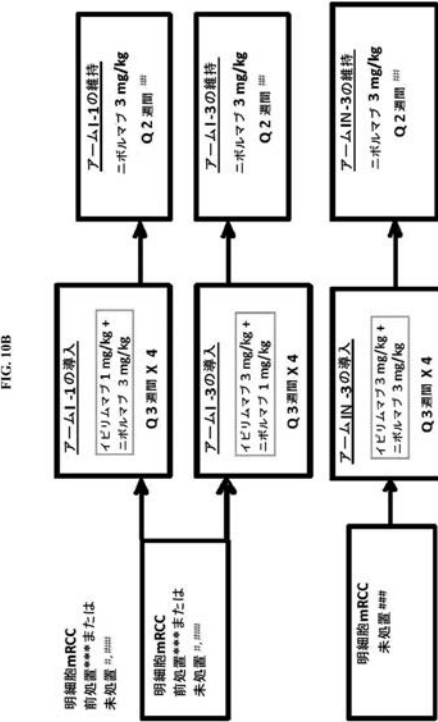
【図 9】



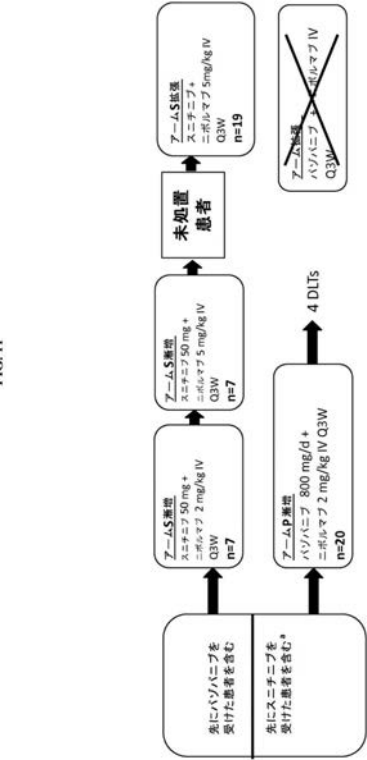
【図 10 A】



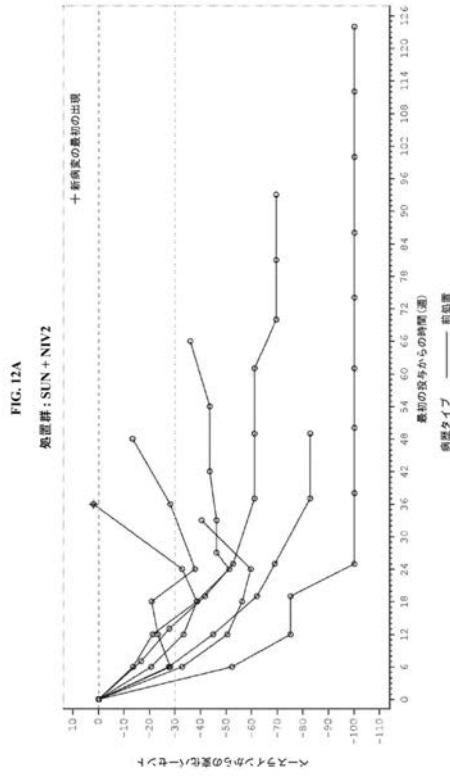
【図 10 B】



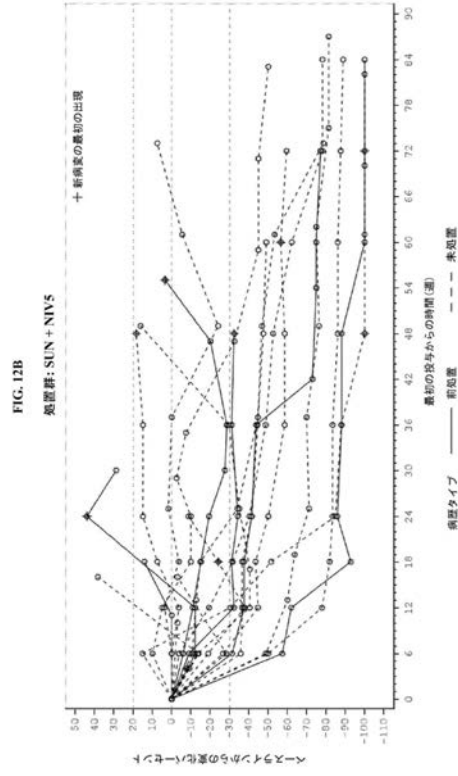
【図 11】



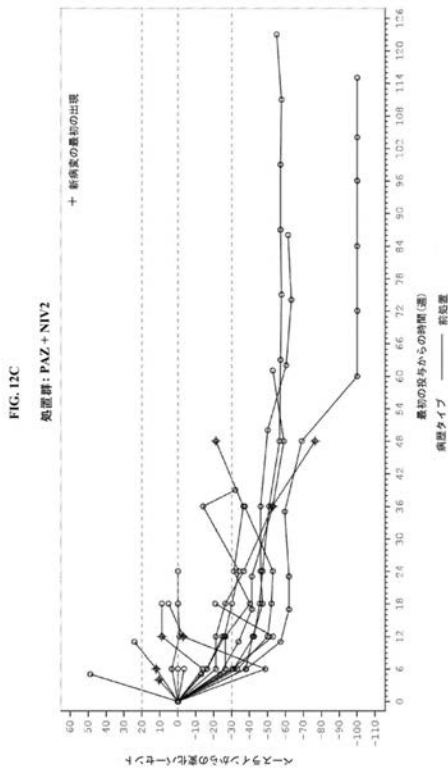
【図 1 2 A】



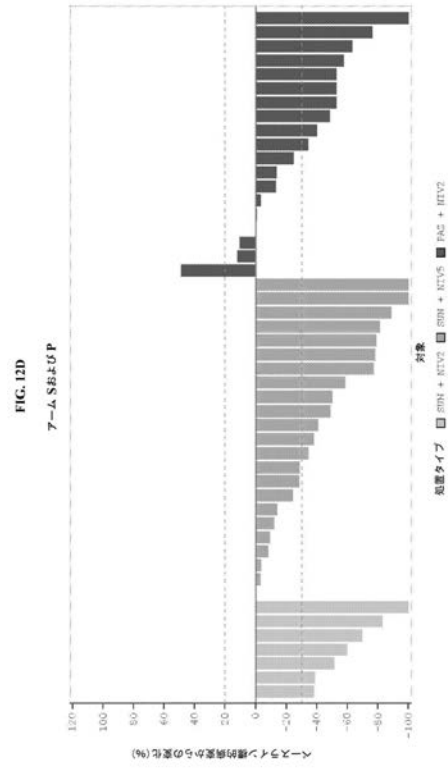
【図 1 2 B】



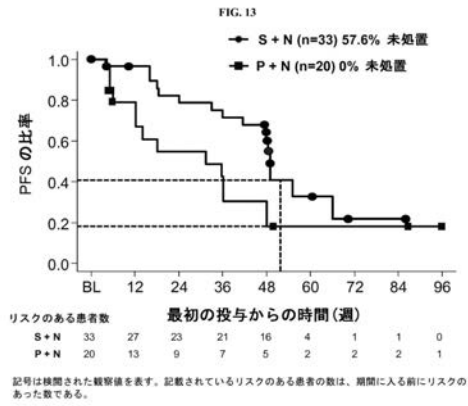
【図 1 2 C】



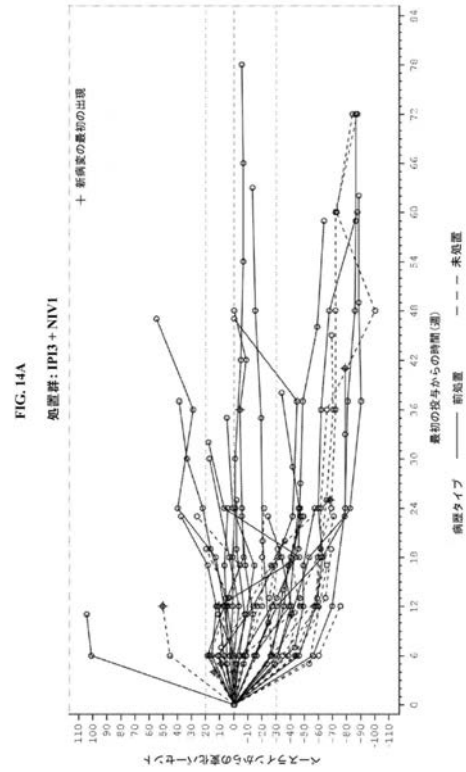
【図 1 2 D】



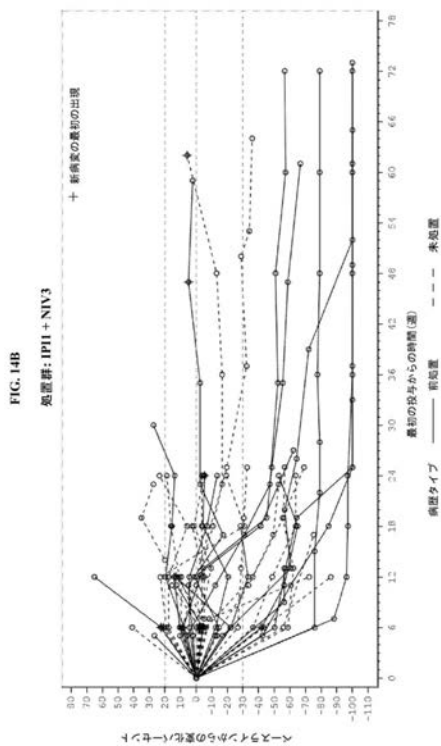
【図 1 3】



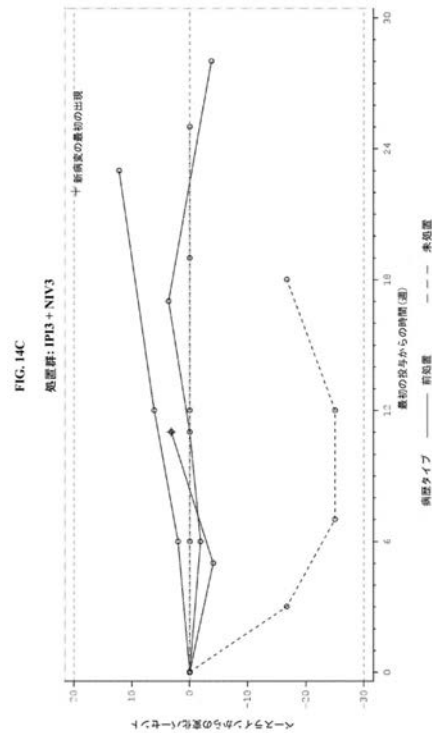
【図 1 4 A】



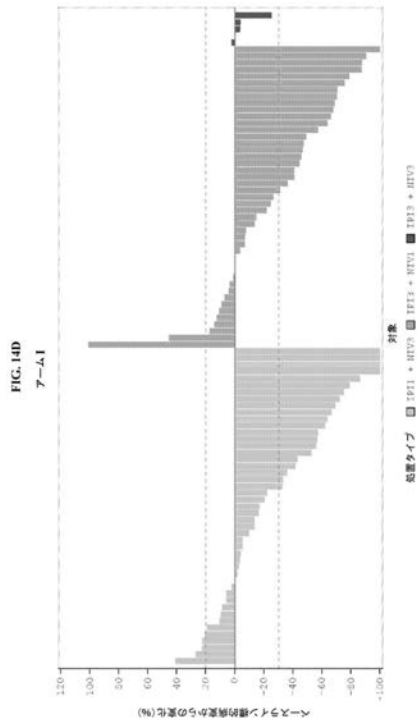
【図 1 4 B】



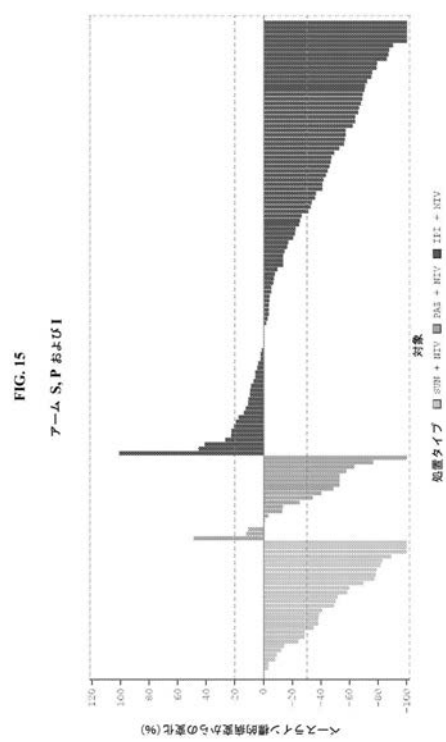
【図 1 4 C】



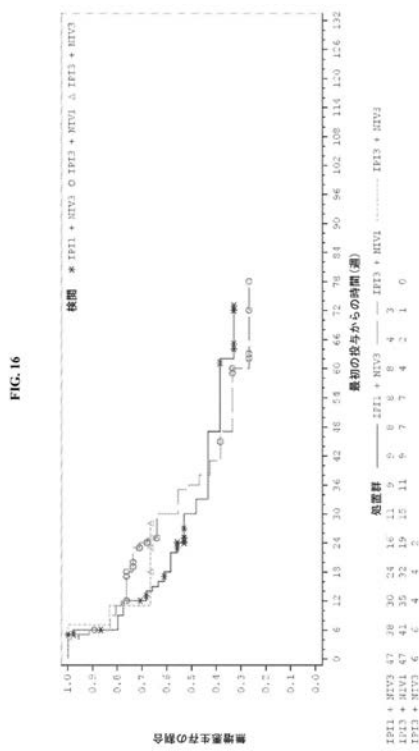
【図 1 4 D】



【図 1 5】



【図 1 6】



【手続補正書】

【提出日】 令和1年9月19日 (2019.9.19)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】 特許請求の範囲

【補正対象項目名】 全文

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

本願明細書または図面に記載された発明。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 13/12	
	A 6 1 P 43/00	1 2 1
	A 6 1 P 43/00	1 1 1

(31)優先権主張番号 61/992,729

(32)優先日 平成26年5月13日(2014.5.13)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 62/005,600

(32)優先日 平成26年5月30日(2014.5.30)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(74)代理人 100170520

弁理士 笹倉 真奈美

(72)発明者 マリア・ジュアークンケル

アメリカ合衆国08543ニュージャージー州プリンストン、ルート206アンド・プロビンス・
ライン・ロード

(72)発明者 ポール・ガグニアー

アメリカ合衆国06492コネティカット州ウォーリンフォード、リサーチ・パークウェイ5番

(72)発明者 デイビッド・フェルトクェイト

アメリカ合衆国08543ニュージャージー州プリンストン、ルート206アンド・プロビンス・
ライン・ロード

F ターム(参考) 4C084 AA19 MA66 NA05 ZA811 ZB261 ZB262 ZC202 ZC412 ZC751

4C085 AA13 AA14 AA16 BB01 BB36 BB41 BB42 BB43 EE03 GG02

4C086 AA01 AA02 BC13 BC42 GA07 MA02 MA04 MA66 NA05 ZA81

ZB26 ZC20 ZC41 ZC75

【外国語明細書】

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

1

TREATMENT OF RENAL CANCER USING A COMBINATION OF AN ANTI-PD-1 ANTIBODY AND ANOTHER ANTI-CANCER AGENT

[0001] Throughout this application, various publications are referenced in parentheses by author name and date, or by Patent No. or Patent Publication No. Full citations for these publications may be found at the end of the specification immediately preceding the claims. The disclosures of these publications are hereby incorporated in their entireties by reference into this application in order to more fully describe the state of the art as known to those skilled therein as of the date of the invention described and claimed herein. However, the citation of a reference herein should not be construed as an acknowledgement that such reference is prior art to the present invention.

FIELD OF THE INVENTION

[0002] This invention relates to methods for treating renal cancer in a subject comprising administering to the subject a combination of an anti-cancer agent which is an anti-Programmed Death-1 (PD-1) antibody and another anti-cancer agent. In certain embodiments, the other anti-cancer agent is an anti-Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4 (CTLA-4) antibody, an anti-angiogenic tyrosine kinase inhibitor, or a combination thereof.

BACKGROUND OF THE INVENTION

[0003] Human cancers harbor numerous genetic and epigenetic alterations, generating neoantigens potentially recognizable by the immune system (Sjoblom *et al.*, 2006). The adaptive immune system, comprised of T and B lymphocytes, has powerful anti-cancer potential, with a broad capacity and exquisite specificity to respond to diverse tumor antigens. Further, the immune system demonstrates considerable plasticity and a memory component. The successful harnessing of all these attributes of the adaptive immune system would make immunotherapy unique among all cancer treatment modalities.

[0004] Until recently, cancer immunotherapy had focused substantial effort on approaches that enhance anti-tumor immune responses by adoptive-transfer of activated effector cells, immunization against relevant antigens, or providing non-specific immune-

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

2

stimulatory agents such as cytokines. In the past decade, however, intensive efforts to develop specific immune checkpoint pathway inhibitors have begun to provide new immunotherapeutic approaches for treating cancer, including the development of an antibody (Ab), ipilimumab (YERVOY®), that binds to and inhibits Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4 (CTLA-4) for the treatment of patients with advanced melanoma (Hodi *et al.*, 2010) and the development of Abs such as nivolumab and pembrolizumab (formerly lambrolizumab; USAN Council Statement, 2013) that bind specifically to the Programmed Death-1 (PD-1) receptor and block the inhibitory PD-1/PD-1 ligand pathway (Topalian *et al.*, 2012a, b; Topalian *et al.*, 2014; Hamid *et al.*, 2013; Hamid and Carvajal, 2013; McDermott and Atkins, 2013).

[0005] PD-1 is a key immune checkpoint receptor expressed by activated T and B cells and mediates immunosuppression. PD-1 is a member of the CD28 family of receptors, which includes CD28, CTLA-4, ICOS, PD-1, and BTLA. Two cell surface glycoprotein ligands for PD-1 have been identified, Programmed Death Ligand-1 (PD-L1) and Programmed Death Ligand-2 (PD-L2), that are expressed on antigen-presenting cells as well as many human cancers and have been shown to downregulate T cell activation and cytokine secretion upon binding to PD-1. Inhibition of the PD-1/PD-L1 interaction mediates potent antitumor activity in preclinical models (U.S. Patent Nos. 8,008,449 and 7,943,743), and the use of Ab inhibitors of the PD-1/PD-L1 interaction for treating cancer has entered clinical trials (Brahmer *et al.*, 2010; Topalian *et al.*, 2012a; Topalian *et al.*, 2014; Hamid *et al.*, 2013; Brahmer *et al.*, 2012; Flies *et al.*, 2011; Pardoll, 2012; Hamid and Carvajal, 2013).

[0006] Nivolumab (formerly designated 5C4, BMS-936558, MDX-1106, or ONO-4538) is a fully human IgG4 (S228P) PD-1 immune checkpoint inhibitor Ab that selectively prevents interaction with PD-1 ligands (PD-L1 and PD-L2), thereby blocking the down-regulation of antitumor T-cell functions (U.S. Patent No. 8,008,449; Wang *et al.*, 2014). Nivolumab has shown activity in a variety of advanced solid tumors including renal cell carcinoma (RCC; renal adenocarcinoma, or hypernephroma), melanoma, and non-small cell lung cancer (Topalian *et al.*, 2012a; Topalian *et al.*, 2014; Drake *et al.*, 2013; WO 2013/173223).

[0007] Ipilimumab (YERVOY®) is a fully human, IgG1 monoclonal Ab that blocks the binding of CTLA-4 to its B7 ligands, thereby stimulating T cell activation and improving

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

3

overall survival (OS) in patients with advanced melanoma (Hodi *et al.*, 2010). Concurrent therapy with nivolumab and ipilimumab in a Phase I clinical trial produced rapid and deep tumor regression in a substantial proportion of patients with advanced melanoma, and was significantly more effective than either Ab alone (Wolchok *et al.*, 2013; WO 2013/173223). However, it was hitherto not known whether this combination of immunoregulatory Abs would be similarly effective in other tumor types.

[0008] Renal cancer (also known as kidney cancer) is a cancer that originates in the kidneys. The most common type of kidney cancer is renal cell carcinoma (RCC). RCC can often be cured by surgical resection if it is diagnosed and treated when still localized to the kidney and to the immediately surrounding tissue (Stage I), and radical resection is the accepted, often curative, therapy for Stage II as well as Stage III RCC. In contrast, when distant metastases are present (Stage IV), disease-free survival is poor. Moreover, the prognosis for any treated RCC patient with progressing, recurring, or relapsing disease is also poor, regardless of cell type or stage. Approximately 25%-30% of RCC patients have metastatic disease at diagnosis, and median survival for metastatic RCC is only about 24 months (Gupta *et al.*, 2008; NCCN GUIDELINES®, Version 3.2014 – Kidney Cancer; Heng *et al.*, 2009). Responses to cytotoxic chemotherapy generally have not exceeded 10% for any regimen that has been studied in adequate numbers of patients. However, a growing understanding of the biology of RCC has led to the development and U.S. Food and Drug Administration (FDA) approval of seven new agents targeting specific growth pathways. Two of the approved targeted therapies, temsirolimus and everolimus, block the mammalian target of rapamycin (mTOR), a serine/threonine protein kinase that regulates cell growth, division, and survival. Several agents that target vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated pro-angiogenesis pathways have been developed, including five oral tyrosine kinase inhibitors (TKIs), pazopanib, sorafenib, sunitinib, axitinib and tivozanib, and an anti-VEGF monoclonal antibody (mAb), bevacizumab. These drugs show clinical efficacy and improved progression-free survival (PFS), but durable response are rare. VEGF TKIs have been shown to suppress immune-inhibitory regulatory T cells (Tregs) and myeloid-derived suppressor cells (MDSCs), making the immune environment more conducive for T cell-mediated antitumor activity. Moreover, targeting the VEGF axis may attenuate RCC-induced immunosuppression, allowing the tumor to become more responsive to immune

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

4

modulation when used in combination, and thereby resulting in greater and more durable therapeutic benefit.

[0009] As described herein, the activity of nivolumab in combination with two anti-angiogenic (anti-VEGF) TKIs, sunitinib (SUTENT®) or sorafenib (NEXAVAR®), has been investigated in a preclinical RCC murine model. Clinical data on the combination of nivolumab with sunitinib, pazopanib (VOTRIENT®), or ipilimumab are also provided herein.

SUMMARY OF THE INVENTION

[0010] The present disclosure provides a method for treating a subject afflicted with a renal cancer comprising administering to the subject a combination of therapeutically effective amounts of: (a) an Ab or an antigen-binding portion thereof that specifically binds to and inhibits PD-1; and (b) another anti-cancer agent. In certain embodiments, the other anti-cancer agent is either (i) an Ab or an antigen-binding portion thereof that specifically binds to and inhibits CTLA-4, (ii) an anti-angiogenic TKI, or (iii) a combination thereof. In some embodiments, the renal cancer is RCC. In certain embodiments of any of the therapeutic methods disclosed herein, the anti-PD-1 Ab is nivolumab. In other embodiments, the anti-PD-1 Ab is pembrolizumab. In certain other embodiments of any of the therapeutic methods disclosed herein, the anti-CTLA-4 Ab is ipilimumab. In other embodiments, the anti-CTLA-4 Ab is tremelimumab. In yet other embodiments, the TKI is sunitinib, pazopanib, sorafenib, axitinib or tivozanib.

[0011] In certain embodiments, the subject has been pre-treated for the renal cancer. In other embodiments, the renal cancer is an advanced, metastatic and/or refractory cancer. In some embodiments, the administration of the combination of the Ab or antigen-binding portion thereof and the TKI induces a durable clinical response in the subject.

[0012] In certain embodiments, the administration of the combination of the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof and the other anti-cancer agent results in an increase in T cell infiltration of the renal cancer tissue or tumor relative to an untreated subject or to a subject treated with a monotherapy of the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof or the other anti-cancer agent. In other embodiments, the increased T cell infiltration is characterized by an increased infiltration of CD4⁺ T cells, CD8⁺ T cells, or both into the renal cancer tissue or tumor. In still other embodiments, the administration

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

5

of the combination of the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof and another anti-cancer agent results in increased T cell proliferation. In another embodiment, the administration of the combination of the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof and the other anti-cancer agent results in a decrease in T-regulatory cells relative to an untreated subject or a subject treated with a monotherapy of an anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof or the other anti-cancer agent.

[0013] In certain embodiments, administration of the combination of the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof and another anti-cancer agent decreases the number of monocytic myeloid-derived suppressor cells. In some embodiments, administration of the combination of the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof and another anti-cancer agent increases the number of granulocytic myeloid cells, relative to an untreated subject or a subject treated with a monotherapy of an anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof or the other anti-cancer agent. In some embodiments, the monocytic myeloid-derived suppressor cells are characterized by expression of $CD11b^+/Ly6C^{hi}/Ly6G^-$ or by expression of $CD11b^+/Ly6C^{low}/Ly6G^-$. In other embodiment, the granulocytic myeloid cells are characterized by expression of $CD11b^+/Ly6C^-/Ly6G^+$.

[0014] In certain embodiments of the methods comprising use of an anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof in combination with a TKI, the therapeutically effective dosage of the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof ranges from about 0.1 to about 10.0 mg/kg body weight administered by intravenous infusion once about every 2-4 weeks. In certain embodiments, the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof is administered at a dose of about 2 mg/kg or about 5 mg/kg once every three weeks.

[0015] For the combination of an anti-PD-1 Ab and an anti-CTLA-4 Ab, the method comprises in certain embodiments (a) an induction phase comprising 4 doses of the anti-PD-1 and anti-CTLA-4 Abs administered at 3-week intervals at the following dosages: (i) about 1 mg/kg anti-PD-1 Ab and about 3 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (ii) about 3 mg/kg anti-PD-1 Ab and about 3 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; or (iii) about 3 mg/kg anti-PD-1 Ab and about 1 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; and (b) a maintenance phase comprising repeated administration of the anti-PD-1 Ab at a dose of about 3 mg/kg every 2 weeks.

[0016] The disclosure also provides a kit for treating a subject afflicted with a renal cancer, the kit comprising: (a) a dosage of an Ab or an antigen-binding portion thereof

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

6

that specifically binds to and inhibits PD-1; (b) one of a dosage of (i) an Ab or an antigen-binding portion thereof that specifically binds to and inhibits CTLA-4 or (ii) an anti-angiogenic TKI, for example, sunitinib or pazopanib; and (c) instructions for using the anti-PD-1 Ab and the anti-CTLA-4 Ab or TKI for treating the subject.

[0017] Other features and advantages of the instant invention will be apparent from the following detailed description and examples which should not be construed as limiting. The contents of all cited references, including scientific articles, newspaper reports, GenBank entries, patents and patent applications cited throughout this application are expressly incorporated herein by reference.

BRIEF DESCRIPTION OF THE FIGURES

[0018] Figure 1 shows the effects of treatment with the following therapeutic agents on mean tumor volume growth: control (filled circle), sunitinib (open circle), sorafenib (filled triangle), anti-PD-1 (filled inverted triangle), sunitinib + anti-PD-1 (open square), and sorafenib + anti-PD-1 (filled diamond).

[0019] Figure 2 shows the time taken for tumors treated with control (filled circle), sunitinib (open circle), sorafenib (filled triangle), anti-PD-1 (filled inverted triangle), sunitinib + anti-PD-1 (open square), and sorafenib + anti-PD-1 (filled diamond), to reach a volume of 500 mm³.

[0020] Figure 3 shows the effects of treatment with the following therapeutic agents on percentage change in body weight: control (filled circle), sunitinib (open circle), sorafenib (filled triangle), anti-PD-1 (filled inverted triangle), sunitinib + anti-PD-1 (open square), and sorafenib + anti-PD-1 (filled diamond).

[0021] Figure 4 shows the infiltration of CD4⁺ and CD8⁺ T cells into Renca tumors post-treatment with control, anti-PD-1 alone, sunitinib alone, or anti-PD-1 in combination with sunitinib.

[0022] Figure 5 shows an assessment of the composition of tumor-infiltrating CD4⁺ immune cells by flow cytometry in a Renca tumor model following treatment with sunitinib, sorafenib or anti-PD-1 Ab alone, or anti-PD-1 Ab in combination with sunitinib or sorafenib.

[0023] Figure 6 shows an assessment of the composition of tumor-infiltrating CD8⁺ immune cells by flow cytometry in a Renca tumor model following treatment with

WO 2015/134605

7

PCT/US2015/018727

sunitinib, sorafenib or anti-PD-1 Ab alone, or anti-PD-1 Ab in combination with sunitinib or sorafenib.

[0024] Figure 7 shows an assessment of myeloid derived tumor-infiltrating cell subsets ($CD11b^+/Ly6C^{hi}/Ly6G^-$, $CD11b^+/Ly6C^{low}/Ly6G^-$, or $CD11b^+/Ly6C^-/Ly6G^+$) in a Renca tumor model following treatment with sunitinib, sorafenib or anti-PD-1 Ab alone, or anti-PD-1 Ab in combination with sunitinib or sorafenib. Gating: Cells $\rightarrow$ Singlets $\rightarrow$ $Cd45^+/Live \rightarrow CD11b^+$.

[0025] Figure 8 shows the effect of the combination of anti-PD-1 mAb and sunitinib on peptide-specific cytotoxic response in a CT26 tumor model. X axis shows the percentage of cell killing. Each bar represents from top to bottom (i) control, (ii) anti-PD-1 10 mg/kg, Q3D x 2 IP, (iii) sunitinib 120 mg/kg, QD x 5, PO, and (iv) anti-PD-1 + sunitinib.

[0026] Figure 9 shows the effect of the combination of anti-PD-1 mAb and sunitinib on tumor volume in a CT26 tumor model. The tumor volume (mm³) is shown in the y-axis for administration of control, anti-PD-1 10 mg/kg Q3Dx IP, sunitinib 120mg/kg QDx5 PO, and anti-PD-1 + sunitinib.

[0027] Figures 10A and 10B show the design of a Phase 1 study. Figures 10A and 10B show the study design of the combination of nivolumab and sunitinib or pazopanib (A), or nivolumab and ipilimumab (B), respectively, in subjects with advanced or metastatic RCC (mRCC) (NCT01472081). * Subjects who had received at least one prior systemic therapy regimen for advanced/metastatic RCC but had not received prior pazopanib or sunitinib were assigned in an alternating fashion to the two dose escalation arms when both arms were open. If only one arm was open, these subjects were assigned to the open arm. ** Until progressive disease (PD) or drug-related toxicity leading to discontinuation or subject withdrew consent. *** Subjects who had received at least one prior systemic therapy, and did not qualify for escalation-phase Arm S and/or P when they were open, were assigned in an alternating fashion to the two ipilimumab combination arms (I-1 and I-3) when both arms were open. If only one arm were open, these subjects were assigned to the open arm. # Treatment-naïve subjects were randomly assigned to one of the 4 arms (Expansion Arm S and P, and I-1 and I-3), if all arms were open, in a 1:1:1:1 ratio until all enrollment was complete. ## Until progressive disease (PD) or drug-related toxicity leading to discontinuation or subject withdrew consent. Treatment beyond initial investigator-assessed RECIST 1.1-defined progression was considered in subjects

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

8

experiencing investigator-assessed clinical benefit and tolerating study therapy. Such subjects were required to discontinue therapy when further progression was documented. ### For the I-1 and I-3 cohort expansion, and the IN-3 dose addition cohort, one prior adjuvant or neoadjuvant therapy for localized or locally advanced RCC was allowed provided recurrence occurred ≥ 6 months after the last dose of the adjuvant or neoadjuvant therapy. Prior cytokine based treatment for RCC [e.g., interferon-alpha (IFN- α) or interleukin 2 (IL-2)] as prior therapy was allowed. These minimally treated (including treatment naïve) subjects were randomly assigned to one of these 3 arms (I-1, I-3 and IN-3), if all arms were open, in a 1:1:1 ratio until all enrollment was complete.

[0028] Figure 11 shows the dose escalation performed in the S and P arms of the nivolumab combination therapy study. The S arm comprised 7 pretreated subjects to whom were administered S + N2; 7 pretreated subjects to whom were administered S + N5; and 19 treatment-naïve patients who entered the S + N5 expansion. The P arm comprised 20 pretreated subjects to whom were administered P + N2. There was no expansion of the P arm.

[0029] Figures 12A-D show clinical activity of RCC subjects treated with a combination of nivolumab and sunitinib or pazopanib. Spider plots show percentage changes from baseline in the tumor burden, measured as the sum of products of perpendicular diameters of all target lesions, in subjects who received various regimens. Figure 12A shows a regimen of sunitinib and 2 mg/kg nivolumab. Figure 12B shows a regimen of sunitinib and 5 mg/kg nivolumab. Figure 12C shows a regimen of pazopanib and 2 mg/kg nivolumab. "+" indicates the first occurrence of a new lesion. Figure 12D is a waterfall plot showing maximum percentage response in baseline target lesions in subjects in the S and P arms. Subjects with baseline target lesions and at least one post-baseline target lesion assessment are presented. Positive change in tumor burden indicates tumor growth; negative change in tumor burden indicates tumor reduction. In the spider and waterfall plots, horizontal lines denote 30% decrease (RECIST 1.1 threshold for PR) and 20% increase (RECIST 1.1 threshold for PD). Not all reductions of 30% or greater from baseline are PRs.

[0030] Figure 13 shows the proportion of progression-free survival (PFS) plotted against time for subjects treated with nivolumab and sunitinib (S + N) or nivolumab and

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

9

pazopanib (P + N). Symbols represent censored observation. The number of patients at risk listed is the number at risk before entering the time period. Tx: treatment.

[0031] Figures 14A-14D show clinical activity of RCC subjects treated with a combination of ipilimumab and nivolumab. Spider plots show percentage changes from baseline in the tumor burden, measured as the sum of products of perpendicular diameters of all target lesions, in subjects who received various regimens. Figure 14A shows a regimen of 3 mg/kg ipilimumab and 1 mg/kg nivolumab. Figure 14B shows a regimen of 1 mg/kg ipilimumab and 3 mg/kg nivolumab. Figure 14C shows a regimen of 3 mg/kg ipilimumab and 3 mg/kg nivolumab. "+" indicates the first occurrence of a new lesion. Figure 14D is a waterfall plot showing maximum percentage response in baseline target lesions in subjects in the I-1, I-3, and IN-3 arms. Subjects with baseline target lesions and at least one post-baseline target lesion assessment are presented. Positive change in tumor burden indicates tumor growth; negative change in tumor burden indicates tumor reduction. In the spider and waterfall plots, horizontal lines denote 30% decrease (RECIST 1.1 threshold for PR) and 20% increase (RECIST 1.1 threshold for PD). Not all reductions of 30% or greater from baseline are PRs.

[0032] Figure 15 shows a comparison of waterfall plots for subjects in the S, P and I arms. Subjects with baseline target lesions and at least one post-baseline target lesion assessment are presented. Positive change in tumor burden indicates tumor growth; negative change in tumor burden indicates tumor reduction. Horizontal lines denote 30% decrease (RECIST 1.1 threshold for PR) and 20% increase (RECIST 1.1 threshold for PD). Not all reductions of 30% or greater from baseline are PRs.

[0033] Figure 16 shows the proportion of PFS plotted against time since first dose (weeks) for subjects treated with 1 mg/kg ipilimumab + 3 mg/kg nivolumab (IPI1+INV3) (asterisk), with 3 mg/kg ipilimumab + 1 mg/kg nivolumab (IPI3 + NIV1)(circle), and 3 mg/kg nivolumab + 3 mg/kg ipilimumab (IPI3 + NIV3)(triangle). Symbols represent censored observation. The number of patients at risk listed is the number at risk before entering the time period.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

[0034] The present invention relates to methods for treating a renal cancer patient comprising administering to the patient a combination of an anti-PD-1 Ab or an antigen-

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

10

binding fragment thereof and another anti-cancer agent. In certain embodiments, the other anti-cancer agent is an anti-CTLA-4 Ab, an anti-angiogenic TKI, or any combination thereof.

Terms

[0035] In order that the present disclosure may be more readily understood, certain terms are first defined. As used in this application, except as otherwise expressly provided herein, each of the following terms shall have the meaning set forth below. Additional definitions are set forth throughout the application.

[0036] "Administering" refers to the physical introduction of a composition comprising a therapeutic agent to a subject, using any of the various methods and delivery systems known to those skilled in the art. Preferred routes of administration for the anti-PD-1 Ab include intravenous, intramuscular, subcutaneous, intraperitoneal, spinal or other parenteral routes of administration, for example by injection or infusion. The phrase "parenteral administration" as used herein means modes of administration other than enteral and topical administration, usually by injection, and includes, without limitation, intravenous, intramuscular, intraarterial, intrathecal, intralymphatic, intralesional, intracapsular, intraorbital, intracardiac, intradermal, intraperitoneal, transtracheal, subcutaneous, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subarachnoid, intraspinal, epidural and intrasternal injection and infusion, as well as *in vivo* electroporation. The TKI is typically administered via a non-parenteral route, preferably orally. Other non-parenteral routes include a topical, epidermal or mucosal route of administration, for example, intranasally, vaginally, rectally, sublingually or topically. Administering can also be performed, for example, once, a plurality of times, and/or over one or more extended periods.

[0037] An "adverse event" (AE) as used herein is any unfavorable and generally unintended or undesirable sign (including an abnormal laboratory finding), symptom, or disease associated with the use of a medical treatment. For example, an adverse event may be associated with activation of the immune system or expansion of immune system cells (*e.g.*, T cells) in response to a treatment. A medical treatment may have one or more associated AEs and each AE may have the same or different level of severity. Reference to methods capable of "altering adverse events" means a treatment regime that decreases

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

11

the incidence and/or severity of one or more AEs associated with the use of a different treatment regime.

[0038] An "antibody" (Ab) shall include, without limitation, a glycoprotein immunoglobulin which binds specifically to an antigen and comprises at least two heavy (H) chains and two light (L) chains interconnected by disulfide bonds, or an antigen-binding portion thereof. Each H chain comprises a heavy chain variable region (abbreviated herein as V_H) and a heavy chain constant region. The heavy chain constant region comprises three constant domains, C_{H1} , C_{H2} and C_{H3} . Each light chain comprises a light chain variable region (abbreviated herein as V_L) and a light chain constant region. The light chain constant region is comprises one constant domain, C_L . The V_H and V_L regions can be further subdivided into regions of hypervariability, termed complementarity determining regions (CDRs), interspersed with regions that are more conserved, termed framework regions (FR). Each V_H and V_L comprises three CDRs and four FRs, arranged from amino-terminus to carboxy-terminus in the following order: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. The variable regions of the heavy and light chains contain a binding domain that interacts with an antigen. The constant regions of the Abs may mediate the binding of the immunoglobulin to host tissues or factors, including various cells of the immune system (*e.g.*, effector cells) and the first component (C1q) of the classical complement system.

[0039] An immunoglobulin may derive from any of the commonly known isotypes, including but not limited to IgA, secretory IgA, IgG and IgM. IgG subclasses are also well known to those in the art and include but are not limited to human IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4. "Isotype" refers to the Ab class or subclass (*e.g.*, IgM or IgG1) that is encoded by the heavy chain constant region genes. The term "antibody" includes, by way of example, both naturally occurring and non-naturally occurring Abs; monoclonal and polyclonal Abs; chimeric and humanized Abs; human or nonhuman Abs; wholly synthetic Abs; and single chain Abs. A nonhuman Ab may be humanized by recombinant methods to reduce its immunogenicity in man. Where not expressly stated, and unless the context indicates otherwise, the term "antibody" also includes an antigen-binding fragment or an antigen-binding portion of any of the aforementioned immunoglobulins, and includes a monovalent and a divalent fragment or portion, and a single chain Ab.

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

12

- [0040] An "isolated antibody" refers to an Ab that is substantially free of other Abs having different antigenic specificities (*e.g.*, an isolated Ab that binds specifically to PD-1 is substantially free of Abs that bind specifically to antigens other than PD-1). An isolated Ab that binds specifically to PD-1 may, however, have cross-reactivity to other antigens, such as PD-1 molecules from different species. Moreover, an isolated Ab may be substantially free of other cellular material and/or chemicals.
- [0041] The term "monoclonal antibody" ("mAb") refers to a non-naturally occurring preparation of Ab molecules of single molecular composition, *i.e.*, Ab molecules whose primary sequences are essentially identical, and which exhibits a single binding specificity and affinity for a particular epitope. A mAb is an example of an isolated Ab. MAbs may be produced by hybridoma, recombinant, transgenic or other techniques known to those skilled in the art.
- [0042] A "human" antibody (HuMAb) refers to an Ab having variable regions in which both the framework and CDR regions are derived from human germline immunoglobulin sequences. Furthermore, if the Ab contains a constant region, the constant region also is derived from human germline immunoglobulin sequences. The human Abs of the invention may include amino acid residues not encoded by human germline immunoglobulin sequences (*e.g.*, mutations introduced by random or site-specific mutagenesis *in vitro* or by somatic mutation *in vivo*). However, the term "human antibody," as used herein, is not intended to include Abs in which CDR sequences derived from the germline of another mammalian species, such as a mouse, have been grafted onto human framework sequences. The terms "human" Abs and "fully human" Abs are used synonymously.
- [0043] A "humanized antibody" refers to an Ab in which some, most or all of the amino acids outside the CDR domains of a non-human Ab are replaced with corresponding amino acids derived from human immunoglobulins. In one embodiment of a humanized form of an Ab, some, most or all of the amino acids outside the CDR domains have been replaced with amino acids from human immunoglobulins, whereas some, most or all amino acids within one or more CDR regions are unchanged. Small additions, deletions, insertions, substitutions or modifications of amino acids are permissible as long as they do not abrogate the ability of the Ab to bind to a particular antigen. A "humanized" Ab retains an antigenic specificity similar to that of the original Ab.

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

13

- [0044] A "chimeric antibody" refers to an Ab in which the variable regions are derived from one species and the constant regions are derived from another species, such as an Ab in which the variable regions are derived from a mouse Ab and the constant regions are derived from a human Ab.
- [0045] An "anti-antigen" Ab refers to an Ab that binds specifically to the antigen. For example, an anti-PD-1 Ab binds specifically to PD-1 and an anti-CTLA-4 Ab binds specifically to CTLA-4.
- [0046] An "antigen-binding portion" of an Ab (also called an "antigen-binding fragment") refers to one or more fragments of an Ab that retain the ability to bind specifically to the antigen bound by the whole Ab.
- [0047] A "cancer" refers a broad group of various diseases characterized by the uncontrolled growth of abnormal cells in the body. Unregulated cell division and growth divide and grow results in the formation of malignant tumors that invade neighboring tissues and may also metastasize to distant parts of the body through the lymphatic system or bloodstream. A "cancer" or "cancer tissue" can include a tumor.
- [0048] "Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4 (CTLA-4) refers to an immunoinhibitory receptor belonging to the CD28 family. CTLA-4 is expressed exclusively on T cells *in vivo*, and binds to two ligands, CD80 and CD86 (also called B7-1 and B7-2, respectively). The term "CTLA-4" as used herein includes human CTLA-4 (hCTLA-4), variants, isoforms, and species homologs of hCTLA-4, and analogs having at least one common epitope with hCTLA-4. The complete hCTLA-4 sequence can be found under GenBank Accession No. AAB59385.
- [0049] The term "immunotherapy" refers to the treatment of a subject afflicted with, or at risk of contracting or suffering a recurrence of, a disease by a method comprising inducing, enhancing, suppressing or otherwise modifying an immune response.
- [0050] "Treatment" or "therapy" of a subject refers to any type of intervention or process performed on, or the administration of an active agent to, the subject with the objective of reversing, alleviating, ameliorating, inhibiting, slowing down or preventing the onset, progression, development, severity or recurrence of a symptom, complication or condition, or biochemical indicia associated with a disease.
- [0051] "Programmed Death-1 (PD-1)" refers to an immunoinhibitory receptor belonging to the CD28 family. PD-1 is expressed predominantly on previously activated T cells *in*

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

14

vivo, and binds to two ligands, PD-L1 and PD-L2. The term "PD-1" as used herein includes human PD-1 (hPD-1), variants, isoforms, and species homologs of hPD-1, and analogs having at least one common epitope with hPD-1. The complete hPD-1 sequence can be found under GenBank Accession No. U64863.

[0052] "Programmed Death Ligand-1 (PD-L1)" is one of two cell surface glycoprotein ligands for PD-1 (the other being PD-L2) that downregulate T cell activation and cytokine secretion upon binding to PD-1. The term "PD-L1" as used herein includes human PD-L1 (hPD-L1), variants, isoforms, and species homologs of hPD-L1, and analogs having at least one common epitope with hPD-L1. The complete hPD-L1 sequence can be found under GenBank Accession No. Q9NZQ7.

[0053] A "subject" includes any human or nonhuman animal. The term "nonhuman animal" includes, but is not limited to, vertebrates such as nonhuman primates, sheep, dogs, and rodents such as mice, rats and guinea pigs. In some embodiments, the subject is a human. The terms, "subject" and "patient" are used interchangeably herein.

[0054] A "therapeutically effective amount" or "therapeutically effective dosage" of a drug or therapeutic agent is any amount of the drug that, when used alone or in combination with another therapeutic agent, protects a subject against the onset of a disease or promotes disease regression evidenced by a decrease in severity of disease symptoms, an increase in frequency and duration of disease symptom-free periods, or a prevention of impairment or disability due to the disease affliction. The ability of a therapeutic agent to promote disease regression can be evaluated using a variety of methods known to the skilled practitioner, such as in human subjects during clinical trials, in animal model systems predictive of efficacy in humans, or by assaying the activity of the agent in *in vitro* assays.

[0055] As used herein, the term "subtherapeutic dose" or "subtherapeutically effective amount" means a dose of a therapeutic compound (e.g., an antibody) that is lower than the usual or typical dose of the therapeutic compound when administered alone for the treatment of a hyperproliferative disease (e.g., cancer). For example, a subtherapeutic dose of an anti-PD1 antibody (nivolumab) is a single dose of the antibody at less than about 3 mg/kg.

[0056] The use of the alternative (e.g., "or") should be understood to mean either one, both, or any combination thereof of the alternatives. As used herein, the indefinite articles

WO 2015/134605

15

PCT/US2015/018727

"a" or "an" should be understood to refer to "one or more" of any recited or enumerated component.

[0057] By way of example, an "anti-cancer agent" promotes cancer regression in a subject. In other embodiments, a therapeutically effective amount of the drug promotes cancer regression to the point of eliminating the cancer. "Promoting cancer regression" means that administering an effective amount of the drug, alone or in combination with an anti-neoplastic agent, results in a reduction in tumor growth or size, necrosis of the tumor, a decrease in severity of at least one disease symptom, an increase in frequency and duration of disease symptom-free periods, or a prevention of impairment or disability due to the disease affliction. In addition, the terms "effective" and "effectiveness" with regard to a treatment includes both pharmacological effectiveness and physiological safety. Pharmacological effectiveness refers to the ability of the drug to promote cancer regression in the patient. Physiological safety refers to the level of toxicity, or other adverse physiological effects at the cellular, organ and/or organism level (adverse effects) resulting from administration of the drug.

[0058] By way of example for the treatment of tumors, a therapeutically effective amount of an anti-cancer agent preferably inhibits cell growth or tumor growth by at least about 20%, more preferably by at least about 40%, even more preferably by at least about 60%, and still more preferably by at least about 80% relative to untreated subjects. In other embodiments of the invention, tumor regression may be observed and continue for a period of at least about 20 days, more preferably at least about 40 days, or even more preferably at least about 60 days. Notwithstanding these ultimate measurements of therapeutic effectiveness, evaluation of immunotherapeutic drugs must also make allowance for "immune-related" response patterns.

[0059] An "immune-related" response pattern refers to a clinical response pattern often observed in cancer patients treated with immunotherapeutic agents that produce antitumor effects by inducing cancer-specific immune responses or by modifying native immune processes. This response pattern is characterized by a beneficial therapeutic effect that follows an initial increase in tumor burden or the appearance of new lesions, which in the evaluation of traditional chemotherapeutic agents would be classified as disease progression and would be synonymous with drug failure. Accordingly, proper evaluation

WO 2015/134605

16

PCT/US2015/018727

of immunotherapeutic agents may require long-term monitoring of the effects of these agents on the target disease.

[0060] A therapeutically effective amount of a drug includes a "prophylactically effective amount," which is any amount of the drug that, when administered alone or in combination with an anti-neoplastic agent to a subject at risk of developing a cancer (*e.g.*, a subject having a pre-malignant condition) or of suffering a recurrence of cancer, inhibits the development or recurrence of the cancer. In embodiments, the prophylactically effective amount prevents the development or recurrence of the cancer entirely. "Inhibiting" the development or recurrence of a cancer means either lessening the likelihood of the cancer's development or recurrence, or preventing the development or recurrence of the cancer entirely.

[0061] The use of the alternative (*e.g.*, "or") should be understood to mean either one, both, or any combination thereof of the alternatives. As used herein, the indefinite articles "a" or "an" should be understood to refer to "one or more" of any recited or enumerated component.

[0062] The terms "about" or "comprising essentially of" refer to a value or composition that is within an acceptable error range for the particular value or composition as determined by one of ordinary skill in the art, which will depend in part on how the value or composition is measured or determined, *i.e.*, the limitations of the measurement system. For example, "about" or "comprising essentially of" can mean within 1 or more than 1 standard deviation per the practice in the art. Alternatively, "about" or "comprising essentially of" can mean a range of up to 10% or 20% (*i.e.*, $\pm 10\%$ or $\pm 20\%$). For example, about 3mg/kg can include any number between 2.7 mg/kg and 3.3 mg/kg (for 10%) or between 2.4 mg/kg and 3.6 mg/kg (for 20%). Furthermore, particularly with respect to biological systems or processes, the terms can mean up to an order of magnitude or up to 5-fold of a value. When particular values or compositions are provided in the application and claims, unless otherwise stated, the meaning of "about" or "comprising essentially of" should be assumed to be within an acceptable error range for that particular value or composition.

[0063] As described herein, any concentration range, percentage range, ratio range or integer range is to be understood to include the value of any integer within the recited

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

17

range and, when appropriate, fractions thereof (such as one tenth and one hundredth of an integer), unless otherwise indicated.

[0064] Various aspects of the invention are described in further detail in the following subsections.

Anti-PD-1 antibodies

[0065] PD-1 is a key immune checkpoint receptor expressed by activated T and B cells and mediates immunosuppression. PD-1 is a member of the CD28 family of receptors, which includes CD28, CTLA-4, ICOS, PD-1, and BTLA. Two cell surface glycoprotein ligands for PD-1 have been identified, Programmed Death Ligand-1 (PD-L1) and Programmed Death Ligand-2 (PD-L2), that are expressed on antigen-presenting cells as well as many human cancers and have been shown to down regulate T cell activation and cytokine secretion upon binding to PD-1. Inhibition of the PD-1/PD-L1 interaction mediates potent antitumor activity in preclinical models.

[0066] HuMAbs that bind specifically to PD-1 with high affinity have been disclosed in U.S. Patent Nos. 8,008,449 and 8,779,105. Other anti-PD-1 mAbs have been described in, for example, U.S. Patent Nos. 6,808,710, 7,488,802, 8,168,757 and 8,354,509, and PCT Publication No. WO 2012/145493. Each of the anti-PD-1 HuMAbs disclosed in U.S. Patent No. 8,008,449 has been demonstrated to exhibit one or more of the following characteristics: (a) binds to human PD-1 with a K_D of 1×10^{-7} M or less, as determined by surface plasmon resonance using a Biacore biosensor system; (b) does not substantially bind to human CD28, CTLA-4 or ICOS; (c) increases T-cell proliferation in a Mixed Lymphocyte Reaction (MLR) assay; (d) increases interferon- γ production in an MLR assay; (e) increases IL-2 secretion in an MLR assay; (f) binds to human PD-1 and cynomolgus monkey PD-1; (g) inhibits the binding of PD-L1 and/or PD-L2 to PD-1; (h) stimulates antigen-specific memory responses; (i) stimulates Ab responses; and (j) inhibits tumor cell growth *in vivo*. Anti-PD-1 Abs usable in the present invention include mAbs that bind specifically to human PD-1 and exhibit at least one, preferably at least five, of the preceding characteristics.

[0067] In one embodiment, the anti-PD-1 Ab is nivolumab. Nivolumab (also known as "OPDIVO®"; formerly designated 5C4, BMS-936558, MDX-1106, or ONO-4538) is a fully human IgG4 (S228P) PD-1 immune checkpoint inhibitor Ab that selectively prevents interaction with PD-1 ligands (PD-L1 and PD-L2), thereby blocking the down-

WO 2015/134605

18

PCT/US2015/018727

regulation of antitumor T-cell functions (U.S. Patent No. 8,008,449; Wang *et al.*, 2014 *Cancer Immunol Res.* 2(9):846-56).

- [0068] In another embodiment, the anti-PD-1 Ab is pembrolizumab. Pembrolizumab (also known as "KEYTRUDA[®]", lambrolizumab, and MK-3475) is a humanized monoclonal IgG4 antibody directed against human cell surface receptor PD-1 (programmed death-1 or programmed cell death-1). Pembrolizumab is described, for example, in U.S. Patent Nos. 8,354,509 and 8,900,587; *see also* <http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=695789> (last accessed: December 14, 2014). Pembrolizumab has been approved by the FDA for the treatment of relapsed or refractory melanoma.
- [0069] In other embodiments, the anti-PD-1 Ab is MEDI0608 (formerly AMP-514), which is a monoclonal antibody. MEDI0608 is described, for example, in US Pat. No. 8,609,089B2 or in <http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=756047> (last accessed December 14, 2014).
- [0070] In some embodiments, the anti-PD-1 antibody is Pidilizumab (CT-011), which is a humanized monoclonal antibody. Pidilizumab is described in US Pat. No. 8,686,119 B2 or WO 2013/014668 A1.
- [0071] Anti-PD-1 Abs usable in the disclosed methods also include isolated Abs that bind specifically to human PD-1 and cross-compete for binding to human PD-1 with nivolumab (*see, e.g.*, U.S. Patent Nos. 8,008,449 and 8,779,105; WO 2013/173223). The ability of Abs to cross-compete for binding to an antigen indicates that these Abs bind to the same epitope region of the antigen and sterically hinder the binding of other cross-competing Abs to that particular epitope region. These cross-competing Abs are expected to have functional properties very similar those of nivolumab by virtue of their binding to the same epitope region of PD-1. Cross-competing Abs can be readily identified based on their ability to cross-compete with nivolumab in standard PD-1 binding assays such as Biacore analysis, ELISA assays or flow cytometry (*see, e.g.*, WO 2013/173223).
- [0072] In certain embodiments, the Abs that cross-compete for binding to human PD-1 with, or bind to the same epitope region of human PD-1 as, nivolumab are mAbs. For administration to human subjects, these cross-competing Abs are preferably chimeric Abs, or more preferably humanized or human Abs. Such chimeric, humanized or human mAbs can be prepared and isolated by methods well known in the art.

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

19

[0073] Anti-PD-1 Abs usable in the methods of the disclosed invention also include antigen-binding portions of the above Abs. It has been amply demonstrated that the antigen-binding function of an Ab can be performed by fragments of a full-length Ab. Examples of binding fragments encompassed within the term "antigen-binding portion" of an Ab include (i) a Fab fragment, a monovalent fragment consisting of the V_L , V_H , C_L and C_{H1} domains; (ii) a $F(ab')_2$ fragment, a bivalent fragment comprising two Fab fragments linked by a disulfide bridge at the hinge region; (iii) a Fd fragment consisting of the V_H and C_{H1} domains; and (iv) a Fv fragment consisting of the V_L and V_H domains of a single arm of an Ab.

Anti-CTLA-4 antibodies

[0074] Anti-CTLA-4 antibodies of the instant invention bind to human CTLA-4 so as to disrupt the interaction of CTLA-4 with a human B7 receptor. Because the interaction of CTLA-4 with B7 transduces a signal leading to inactivation of T-cells bearing the CTLA-4 receptor, disruption of the interaction effectively induces, enhances or prolongs the activation of such T cells, thereby inducing, enhancing or prolonging an immune response.

[0075] HuMAbs that bind specifically to CTLA-4 with high affinity have been disclosed in U.S. Patent Nos. 6,984,720 and 7,605,238. Other anti-PD-1 mAbs have been described in, for example, U.S. Patent Nos. 5,977,318, 6,051,227, 6,682,736, and 7,034,121. The anti-PD-1 HuMAbs disclosed in U.S. Patent No. Nos. 6,984,720 and 7,605,238 have been demonstrated to exhibit one or more of the following characteristics: (a) binds specifically to human CTLA-4 with a binding affinity reflected by an equilibrium association constant (K_a) of at least about 10^7 M^{-1} , or about 10^9 M^{-1} , or about 10^{10} M^{-1} to 10^{11} M^{-1} or higher, as determined by Biacore analysis; (b) a kinetic association constant (k_a) of at least about 10^3 , about 10^4 , or about $10^5 \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1}$; (c) a kinetic disassociation constant (k_d) of at least about 10^3 , about 10^4 , or about $10^5 \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1}$; and (d) inhibits the binding of CTLA-4 to B7-1 (CD80) and B7-2 (CD86). Anti-CTLA-4 Abs usable in the present invention include mAbs that bind specifically to human CTLA-4 and exhibit at least one, and preferably at least three of the preceding characteristics. An exemplary clinical anti-CTLA-4 Ab is the human mAb 10D1 (now known as ipilimumab and marketed as YERVOY®) as disclosed in U.S. Patent No. 6,984,720.

WO 2015/134605

20

PCT/US2015/018727

- [0076] An exemplary clinical anti-CTLA-4 Ab is the human mAb 10D1 (now known as ipilimumab and marketed as YERVOY®) as disclosed in U.S. Patent No. 6,984,720. Ipilimumab is an anti-CTLA-4 Ab for use in the methods disclosed herein. Ipilimumab is a fully human, IgG1 monoclonal Ab that blocks the binding of CTLA-4 to its B7 ligands, thereby stimulating T cell activation and improving overall survival (OS) in patients with advanced melanoma.
- [0077] Another anti-CTLA-4 Ab usable in the present methods is tremelimumab (also known as CP-675,206). Tremelimumab is human IgG2 monoclonal anti-CTLA-4 antibody. Tremelimumab is described in WO/2012/122444, U.S. Publ. No. 2012/263677, or WO Publ. No. 2007/113648 A2.
- [0078] Anti-CTLA-4 Abs usable in the disclosed methods also include isolated Abs that bind specifically to human PD-1 and cross-compete for binding to human CTLA-4 with ipilimumab or tremelimumab or bind to the same epitope region of human CTLA-4 as . In certain embodiments, the Abs that cross-compete for binding to human CTLA-4 with, or bind to the same epitope region of human PD-1 as does ipilimumab or tremelimumab, are Abs comprising a heavy chain of the human IgG1 isotype. For administration to human subjects, these cross-competing Abs are preferably chimeric Abs, or more preferably humanized or human Abs. Usable anti-CTLA-4 Abs also include antigen-binding portions of the above Abs such as Fab, F(ab')₂, Fd or Fv fragments.

Standard-of-Care Therapies for Renal Cancer

- [0079] The present invention also includes a combination therapy of an anti-PD-1 antibody with a standard of care therapy for treatment of renal cancer. The standard of care therapy can be performed on the subject any time before, during, or after the anti-PD1 antibody treatment. In some cases, the standard-of-care therapy and PD-1 antibody treatment are also combined with an additional treatment. Standard-of-care therapies for different types of cancer are well known by persons of skill in the art. For example, the National Comprehensive Cancer Network (NCCN), an alliance of 21 major cancer centers in the USA, publishes the NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN GUIDELINES®) that provide detailed up-to-date information on the standard-of-care treatments for a wide variety of cancers (*see* NCCN GUIDELINES®, 2014).
- [0080] RCC is the most common type of kidney cancer in adults, responsible for approximately 90% of renal tumors, and 80-90% of these are of the clear-cell histology

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

21

(NCCN GUIDELINES®, Version 3.2014 – Kidney Cancer). RCC accounts for about 3% of all cancers in the United States and an estimated 63,920 patients will be diagnosed with renal cancer and 13,860 will die of the disease in the U.S. in 2014 (Siegel *et al.*, 2014). Metastatic disease is found in about 30% of subjects at diagnosis.

[0081] For clinically localized RCC (Stage IA and IB), surgical resection, including radical nephrectomy and nephron-sparing surgery, is an effective therapy. Partial nephrectomy is generally not suitable for patients with locally advanced tumors (Stage II and III), in which case radical nephrectomy is preferred. Where the tumor is confined to the renal parenchyma, the 5-year survival rate is 60-70%, but this is lowered considerably in Stage IV disease where metastases have spread. Stage IV RCC is relatively resistant to RT and chemotherapy, although patients may benefit from surgery, and cytoreductive nephrectomy before systemic therapy is recommended for patients with a potentially surgically resectable primary and multiple resectable metastases.

[0082] Until recently, the cytokines IL-2 and IFN α , *e.g.*, IFN-2b and PegIFN-2b, were the only active systemic treatments for advanced or metastatic RCC (mRCC), both providing reported objective response rates (ORRs) of 5-27%. IL-2 was approved based on a 15% durable response rate. However, due to substantial toxicities including hypotension (71%), diarrhea (67%), dyspnea (43%), rash (42%), supraventricular tachycardia (12%), and a variety of metabolic and hematologic disturbances (Fyfe *et al.*, 1995), IL-2 is only administered to relatively young and exceptionally medically fit subjects. In addition, due to the severe acute toxicities, its administration is limited to intensive care settings in tertiary care facilities. IFN- α was not approved for the treatment of RCC, and due to the limited clinical benefit and substantial toxicity profile of IL-2 and IFN- α , newer targeted agents have largely replaced cytokines in the treatment of advanced or metastatic renal cell carcinoma.

[0083] The recognition of the importance of hypoxia inducible factor alpha (HIF α) signaling in the pathogenesis of clear-cell RCC has led to widespread study of two classes of targeted therapies, anti-angiogenic TKIs and mTOR inhibitors, in 1L and 2L treatments (Mulders, 2009). Targeting of angiogenesis is rational because constitutive HIF α activation leads to the upregulation or activation of several proteins including vascular endothelial growth factor (VEGF), which can subsequently lead to tumor proliferation and neovasculature formation. Moreover, blockade of VEGF activity may modulate the

WO 2015/134605

22

PCT/US2015/018727

immune environment and stimulate an antitumor response. Targeting of the mTOR pathway is important because activation of the upstream PI3K/Akt/mTOR signaling pathway is one method by which constitutive HIF α activation or upregulation occurs (Mulders, 2009).

[0084] Agents that target angiogenesis include VEGF-receptor (VEGFR) TKIs (*e.g.*, sorafenib, sunitinib, pazopanib, axitinib, and tivozanib) and VEGF-binding mAbs (*e.g.*, bevacizumab), while agents that target the mTOR pathway include the mTOR inhibitors (*e.g.*, everolimus and temsirolimus) (Mulders, 2009; NCCN GUIDELINES®, Version 3.2014 – Kidney Cancer). However, durable responses are rare as most patients develop resistance and eventually progressive disease, and OS improvement has only been shown in one phase 3 trial in poor-risk patients: temsirolimus (TORISEL®) showed a statistically significant benefit for OS in patients with advanced RCC compared to IFN α (10.9 months versus 7.3 months) (Hudes *et al.*, 2007). Everolimus (AFINITOR®) has also demonstrated a 2.1-month improvement in median progression-free survival (PFS) versus placebo, but with no OS improvement (Motzer *et al.*, 2008). Among the five approved anti-angiogenic agents (sorafenib, sunitinib, pazopanib, axitinib, and bevacizumab) and two approved mTOR inhibitors (temsirolimus, everolimus), only everolimus is approved specifically for use after the failure of treatment with anti-angiogenic therapy. In the U.S., everolimus is indicated for the treatment of advanced RCC after failure of first-line treatment with sunitinib or sorafenib, whereas in the EU, everolimus is more broadly indicated for patients with advanced RCC, whose disease has progressed on or after treatment with VEGF-targeted therapy. No recommendation exists for patients progressing on mTOR inhibitors.

Immunotherapy of Renal Cancer

[0085] A clear need exists for effective agents for patients who have progressed on multiple lines of targeted therapy, as well as for therapies that extend survival for longer periods beyond the current standard treatments. Newer approaches to immunotherapy, beyond IL-2 and IFN- α , have recently shown promise. Immunotherapy was initially tested in patients with mRCC because traditional chemotherapy and radiotherapy had proven disappointing, renal tumors were known to be capable of evoking an immune response, and RCCs are among the most common tumors to show spontaneous regression (Elhilali *et al.*, 2000; Inman *et al.*, 2013). Currently, a variety of immunotherapeutic

WO 2015/134605

23

PCT/US2015/018727

strategies for treating RCC are in clinical development, including T cell modulation, immune priming, and innate immunity (Rosenblatt and McDermott, 2011; Inman *et al.*, 2013). Methods of reversing T cell immunosuppression using Abs that target the PD-1 receptor or its PD-L1 ligand have also proven to be very promising in treating RCC (Topalian *et al.*, 2012a; Brahmer *et al.*, 2012; WO 2013/173223).

Combination immunotherapy of renal cancer

[0086] Immunotherapeutic approaches involving a combination of agents, for example anti-PD-1 and anti-CTLA-4 Abs, have proven to be highly efficacious in treating melanoma (Wolchok *et al.*, 2013; WO 2013/173223). By analogy, RCC patients may be able to benefit either from the combination of different immunotherapeutic drugs or the combination of such drugs with targeted agents or other treatments including, surgery, radiation, standard cancer chemotherapies, or vaccines. However, surprising and unexpected complications have sometimes been observed when immunotherapeutics are combined with other anti-cancer agents. For example, first-line therapy of two melanoma patients carrying BRAF V600E mutations with anti-PD-1 agents (nivolumab and MK-3475, respectively) did not cause significant toxicity, but treatment with vemurafenib (ZELBORAF®) upon disease progression resulted in severe hypersensitivity drug eruptions with multi-organ injury early in their vemurafenib treatment course (Johnson *et al.*, 2013). One patient subsequently developed acute inflammatory demyelinating polyneuropathy and the other developed anaphylaxis upon low-dose vemurafenib rechallenge.

[0087] Specifically relating to RCC, all agents approved to date for the treatment of mRCC have been approved as monotherapy, except for bevacizumab (AVASTIN®) which is approved only in combination with IFN- α . This combination was approved based on the improvement in PFS in conjunction with an acceptable safety profile although it does not lead to a significant improvement in median OS compared to patients receiving IFN- α alone (Escudier *et al.*, 2010; Rini *et al.*, 2010) and causes a higher incidence of Grade ≥ 3 hypertension and proteinuria. Many other combinations of anti-angiogenic therapy plus immunotherapy have been evaluated in clinical trials but significant toxicities have often been observed, including in trials of sunitinib plus IFN- α (Motzer *et al.*, 2009), sunitinib plus IL-21 (Grunwald *et al.*, 2011), sunitinib plus

WO 2015/134605

24

PCT/US2015/018727

tremelimumab (Rini *et al.*, 2011), sorafenib plus IFN- α (Escudier *et al.*, 2007; Ryan *et al.*, 2007; Gollob *et al.*, 2007), and sorafenib plus IL-2 (Procopio *et al.*, 2011).

[0088] In a Phase 1 trial investigating the use of sunitinib plus IFN- α in treatment-naïve mRCC subjects (n = 25), all subjects experienced Grade 3/4 treatment-emergent AEs, most commonly neutropenia, fatigue, and thrombocytopenia (Motzer *et al.*, 2009). Although lower starting doses were better tolerated, clinical activity was reduced. The 12% response rate seen with sunitinib plus IFN- α was lower than the historical response rate of 27.5% seen with sunitinib alone. Sunitinib plus IL-21 was also studied in a Phase 1 trial in treatment naïve subjects (n = 9) (Procopio *et al.*, 2011). The combination of full-dose sunitinib with IL-21 at 10 mcg/kg was considered too toxic based on resultant hematologic dose limiting toxicities (DLTs), while the combination with lower dose IL-21 was not considered to be therapeutically relevant. Sunitinib plus tremelimumab (an anti-CTLA-4 Ab; Ribas, 2010; U.S. Patent No. 6,682,736) was studied in a Phase 1 dose-escalation trial in 28 subjects with mRCC who had received ≤ 1 prior systemic therapy (Rini *et al.*, 2011). An unexpected toxicity of rapid-onset renal failure was observed in 4 subjects who received sunitinib 37.5 mg daily in combination with 10 mg/kg or 15 mg/kg tremelimumab every 12 weeks. Although a 43% partial response rate was observed, the toxicity of the combination at the MTD (sunitinib 37.5 mg daily plus tremelimumab 10 mg/kg q 12 weeks) was deemed unacceptable.

[0089] Combinations with sorafenib have also proven to be either too toxic or no more effective than sorafenib monotherapy. Although a Phase 1 trial of sorafenib plus IFN- α in a population including 12 mRCC subjects concluded that full dose sorafenib plus IFN 9 MIU was well tolerated with only one DLT of Grade 3 asthenia encountered (Escudier *et al.*, 2007), two subsequent Phase 2 trials found increased toxicity when this combination was used (Ryan *et al.*, 2007; Gollob *et al.*, 2007). In a Phase 2 trial of sorafenib plus IFN- α in 62 subjects with treatment-naïve mRCC, the confirmed response rate for the combination (19%) was higher than the historical response rate for either agent alone, but increased toxicity, including Grade 3 or worse toxicity in 77% of subjects, limited further development (Ryan *et al.*, 2007). In a Phase 2 trial of sorafenib plus IFN- α in 40 first- or second-line subjects, the response rate was 33% and included 2 complete responses (Gollob *et al.*, 2007). However, the combination was more toxic than either drug alone, and therapy was only tolerable with treatment breaks and dose reductions (65% of

WO 2015/134605

25

PCT/US2015/018727

subjects). Sorafenib plus subcutaneous IL-2 versus sorafenib alone was studied in a randomized Phase 2 trial in 128 subjects with treatment-naïve mRCC (Procopio *et al.*, 2011). The IL-2 dose was reduced from 4.5 MIU to 3 MIU after 40 subjects were treated due to toxicity. Although the response rate was higher in the combination arm than in the sorafenib monotherapy arm (27% versus 15%, respectively), median PFS was not significantly different between the two treatment groups. The authors concluded that efficacy was not improved by use of the combination of sorafenib plus IL-2.

[0090] Thus, no combination regimen including an anti-angiogenic TKI has been able to demonstrate improved efficacy in RCC without increased, and generally unacceptable, toxicity when compared to monotherapy with either drug. The above examples in melanoma and RCC clearly indicate that combination of immunotherapy (including an immune checkpoint inhibitor drug such as an anti-CTLA-4 or anti-PD-1 Ab) with a targeted anti-cancer therapy (such as an anti-angiogenic TKI) is unpredictable and must be carefully assessed for safety as well as efficacy in clinical trials. Although the combination of nivolumab (anti-PD-1) and ipilimumab (anti-CTLA-4) has been highly effective in treating melanoma with manageable toxicity (Wolchok *et al.*, 2013), it was not hitherto known whether this combination would be significantly more effective in human subjects than treatment of RCC and other cancers with the individual agents.

Pharmaceutical Compositions and Dosages

[0091] Therapeutic agents of the present invention may be constituted in a composition, *e.g.*, a pharmaceutical composition containing an Ab or a TKI and a pharmaceutically acceptable carrier. As used herein, a "pharmaceutically acceptable carrier" includes any and all solvents, dispersion media, coatings, antibacterial and antifungal agents, isotonic and absorption delaying agents, and the like that are physiologically compatible. Preferably, the carrier for a composition containing an Ab is suitable for intravenous, intramuscular, subcutaneous, parenteral, spinal or epidermal administration (*e.g.*, by injection or infusion), whereas the carrier for a composition containing a TKI is suitable for non-parenteral, *e.g.*, oral, administration. A pharmaceutical composition of the invention may include one or more pharmaceutically acceptable salts, anti-oxidant, aqueous and non-aqueous carriers, and/or adjuvants such as preservatives, wetting agents, emulsifying agents and dispersing agents.

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

26

[0092] Dosage regimens are adjusted to provide the optimum desired response, *e.g.*, a maximal therapeutic response and/or minimal adverse effects. For administration of an anti-PD-1 Ab, including in combination with another anti-cancer agent, the dosage may range from about 0.01 to about 20 mg/kg, from about 0.1 to about 10 mg/kg, of the subject's body weight. For example, dosages can be about 0.1, about 0.3, about 1, about 2, about 3, about 5 or about 10 mg/kg body weight, and about 0.3, about 1, about 2, about 3, or about 5 mg/kg body weight. The dosing schedule is typically designed to achieve exposures that result in sustained receptor occupancy (RO) based on typical pharmacokinetic properties of an Ab. An exemplary treatment regime entails administration once per week, once about every 2 weeks, once about every 3 weeks, once about every 4 weeks, once about a month, once about every 3-6 months or longer. In certain embodiments, an anti-PD-1 Ab such as nivolumab is administered to the subject once about every 2 weeks. In other embodiments, the Ab is administered once about every 3 weeks. The dosage and scheduling may change during a course of treatment. For example, a dosing schedule for anti-PD-1 monotherapy may comprise administering the Ab: (i) every 2 weeks in 6-week cycles; (ii) every 4 weeks for six dosages, then every three months; (iii) every 3 weeks; (iv) 3-10 mg/kg once followed by 1 mg/kg every 2-3 weeks. Considering that an IgG4 Ab typically has a half-life of 2-3 weeks, a dosage regimen for an anti-PD-1 Ab of the invention comprises about 0.3- about 10 mg/kg body weight, preferably about 1- about 5 mg/kg body weight, more preferably about 1- about 3 mg/kg body weight via intravenous administration, with the Ab being given every 14-21 days in up to 6-week or 12-week cycles until complete response or confirmed progressive disease.

[0093] When used in combinations with other cancer agents, the dosage of an anti-PD-1 Ab may be lowered compared to the monotherapy dose. For example, a dosage of nivolumab that is significantly lower than the typical about 3 mg/kg every 3 weeks, for instance about 0.1 mg/kg or less about every 3 or 4 weeks, is regarded as a subtherapeutic dosage. In some embodiments, the subtherapeutic dose is about 2 mg/kg, about 1 mg/kg, about 0.1 mg/kg, or about 0.01 mg/kg. Receptor-occupancy data from 15 subjects who received 0.3 mg/kg to 10 mg/kg dosing with nivolumab indicate that PD-1 occupancy appears to be dose-independent in this dose range. Across all doses, the mean occupancy rate was 85% (range, 70% to 97%), with a mean plateau occupancy of 72% (range, 59%

WO 2015/134605

27

PCT/US2015/018727

to 81%) (Brahmer *et al.*, 2010). Thus, about 0.3 mg/kg dosing may allow for sufficient exposure to lead to maximal biologic activity.

[0094] Although higher nivolumab monotherapy dosing up to 10 mg/kg every two weeks has been achieved without reaching the maximum tolerated dose (MTD), the significant toxicities reported in other trials of checkpoint inhibitors plus anti-angiogenic therapy (see, e.g., Johnson *et al.*, 2013; Rini *et al.*, 2011) support the selection of a nivolumab dose lower than 10 mg/kg.

[0095] Ipilimumab (YERVOY®) is approved for the treatment of melanoma at 3 mg/kg given intravenously once every 3 weeks for 4 doses. Thus, in embodiments, about 3 mg/kg is the highest dosage of ipilimumab used in combination with the anti-PD-1 Ab though, in certain embodiments, an anti-CTLA-4 Ab such as ipilimumab may be dosed within the range of about 0.3-10 mg/kg body weight about every two or three weeks when combined with nivolumab. A dosage of ipilimumab that is significantly lower than the approved 3 mg/kg every 3 weeks, for instance about 0.3 mg/kg or less about every 3 or 4 weeks, is regarded as a subtherapeutic dosage. In some embodiments, the subtherapeutic dose is about 2 mg/kg, about 1 mg/kg, about 0.1 mg/kg, or about 0.01 mg/kg.

[0096] It has been shown that combination dosing of nivolumab at 3 mg/kg and ipilimumab at 3 mg/kg exceeded the maximum tolerated dose (MTD) in a melanoma population, whereas a combination of nivolumab at 1 mg/kg plus ipilimumab at 3 mg/kg or nivolumab at 3 mg/kg plus ipilimumab at 1 mg/kg was found to be tolerable in melanoma patients (Wolchok *et al.*, 2013). Accordingly, although nivolumab is tolerated up to 10 mg/kg given intravenously every 2 weeks, in embodiments doses of the anti-PD-1 Ab do not exceed about 3 mg/kg when combined with ipilimumab. In certain embodiments, based on risk-benefit and PK-PD assessments, the dosage used comprises a combination of nivolumab at about 1 mg/kg plus ipilimumab at about 3 mg/kg, nivolumab at about 3 mg/kg plus ipilimumab at about 1 mg/kg, or nivolumab at about 3 mg/kg plus ipilimumab at about 3 mg/kg is used, each administered at a dosing frequency of once about every 2-4 weeks, once about every 3 weeks. In certain other embodiments, nivolumab is administered at a dosage of about 0.1, about 0.3, about 1, about 2, about 3 or about 5 mg/kg in combination with ipilimumab administered at a dosage of about 0.1, about 0.3, about 1, about 2, about 3 or about 5 mg/kg, once every 2 weeks, once every 3 weeks, or once every 4 weeks. In certain embodiments, the combination of an anti-PD-1

WO 2015/134605

28

PCT/US2015/018727

Ab and an anti-CTLA-4 Ab is administered intravenously to the subject in an induction phase about every 2 or 3 weeks for 2, 3 or 4 administrations. In certain embodiments, the combination of nivolumab and ipilimumab is administered intravenously in the induction phase about every 3 weeks for 4 administrations. The induction phase is followed by a maintenance phase during which only the anti-PD-1 Ab is administered to the subject at a dosage of about 0.1, about 0.3, about 1, about 2, about 3, about 5 or about 10 mg/kg every two or three weeks for as long as the treatment proves efficacious or until unmanageable toxicity or disease progression occurs. In certain embodiments, nivolumab is administered during the maintenance phase at a dose of about 3 mg/kg body about every 2 weeks.

[0097] For combination of nivolumab with other anti-cancer agents, in some embodiments, these agents can be administered at their approved dosages. Treatment is continued as long as clinical benefit is observed or until unacceptable toxicity or disease progression occurs. Nevertheless, in certain embodiments, the dosages of these anti-cancer agents administered are significantly lower than the approved dosage, *i.e.*, a subtherapeutic dosage, of the agent is administered in combination with the anti-PD-1 Ab. The anti-PD-1 Ab can be administered at the dosage that has been shown to produce the highest efficacy as monotherapy in clinical trials, *e.g.*, about 3 mg/kg of nivolumab administered about once every three weeks, or at a significantly lower dose, *i.e.*, at a subtherapeutic dose.

[0098] The dosing schedule for a TKI varies for different TKIs. For example, the usual dosage of sunitinib comprises administration to adults of a fixed dose of 50 mg orally once a day with or without food, with dose adjustments in about 12.5-mg increments or decrements recommended based on individual patient safety and tolerability. Sunitinib is given on a schedule of four weeks on treatment followed by two weeks off treatment. In some embodiments, sunitinib is administered at a dose of about 12.5, about 25, about 37.5, about 50, about 62.5, about 75, about 87.5 or about 90 mg once a day. Sorafenib is administered to adult patients at a dosage of 400 mg orally twice a day at least one hour before or two hours after eating. In some embodiments, sorafenib is administered at a dose of about 100, about 200, about 300, about 400, about 500, about 600 or about 800 mg twice a day. Pazopanib is administered to patients at a dose of 800 mg orally once daily without food (at least 1 hour before or 2 hours after a meal). In some embodiments, pazopanib is administered at a dose of about 200, about 400, about 600, about 700, about

WO 2015/134605

29

PCT/US2015/018727

800, about 900, or about 1000 mg one a day. Axitinib (INLYTA®) is administered to patients at a dose of about 5 mg orally twice daily approximately 12 h apart with or without food, though dose adjustments may be made, as necessary, to about 2, about 3, about 7 or about 10 mg orally twice daily. Tivozanib is not yet approved by the FDA, but is recommended oral daily dosage at about 1 or 1.5 mg, preferably 1.5 mg, 28 days on followed by 14 days off (Eskens *et al.*, 2011) or 21 days on followed by 7 days off (Nosov *et al.*, 2012). In some embodiments, tivozanib is administered at a dose of about 0.5, about 0.75, about 1, about 1.25, about 1.5, about 1.75 or about 2 mg once a day. For a combination treatment of TKIs with an anti-PD-1 Ab, in some embodiments, the TKIs are administered at their approved or recommended dosages. Treatment is continued as long as clinical benefit is observed or until unacceptable toxicity or disease progression occurs.

[0099] In certain embodiments, the dosages of the TKI administered are the approved or recommended dosages. In other embodiments, a significantly lower dosage than the approved dosage, *i.e.*, a subtherapeutic dosage, of the TKI is administered in combination with the anti-PD-1 Ab. The anti-PD-1 Ab may be administered at the dosage that has been shown to produce the highest efficacy as monotherapy in clinical trials, *e.g.*, about 3 mg/kg of nivolumab administered once every three weeks (Topalian *et al.*, 2012a; Topalian *et al.*, 2012), or at a lower dose, *i.e.*, at a subtherapeutic dose. In some embodiments, the anti-PD-1 Ab is administered at a dosage of about 0.1, about 0.3, about 1, about 2, about 3 or about 5 mg/kg and the TKI is administered at a dosage of about 0.1 mg, about 0.5, about 1, about 2, about 3, about 5, about 7.5, about 10, about 12.5, about 15, about 20, about 30, about 40, about 50 or about 75 mgs/kg.

[0100] Dosage and frequency vary depending on the half-life of the Ab in the subject. In general, human Abs show the longest half-life, followed by humanized Abs, chimeric Abs, and nonhuman Abs. The dosage and frequency of administration can vary depending on whether the treatment is prophylactic or therapeutic. In prophylactic applications, a relatively low dosage is typically administered at relatively infrequent intervals over a long period of time. Some patients continue to receive treatment for the rest of their lives. In therapeutic applications, a relatively high dosage at relatively short intervals is sometimes required until progression of the disease is reduced or terminated, and preferably until the patient shows partial or complete amelioration of symptoms of disease. Thereafter, the patient can be administered a prophylactic regime.

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

30

[0101] Actual dosage levels of the active ingredients in the pharmaceutical compositions of the present invention may be varied so as to obtain an amount of the active ingredient which is effective to achieve the desired therapeutic response for a particular patient, composition, and mode of administration, without being unduly toxic to the patient. The selected dosage level will depend upon a variety of pharmacokinetic factors including the activity of the particular compositions of the present invention employed, the route of administration, the time of administration, the rate of excretion of the particular compound being employed, the duration of the treatment, other drugs, compounds and/or materials used in combination with the particular compositions employed, the age, sex, weight, condition, general health and prior medical history of the patient being treated, and like factors well known in the medical arts. A composition of the present invention can be administered via one or more routes of administration using one or more of a variety of methods well known in the art. As will be appreciated by the skilled artisan, the route and/or mode of administration will vary depending upon the desired results.

Methods of the Invention

[0102] This disclosure provides a method of treating a subject afflicted with a renal cancer. In certain embodiments, the invention includes a method of treating a renal cancer or a subject afflicted with renal cancer comprising a combination therapy. In some embodiments, the method comprises administering to the subject a combination of therapeutically effective amounts of: (a) an anti-cancer agent which is an Ab or an antigen-binding portion thereof that specifically binds to and a PD-1 receptor and inhibits PD-1 activity; and (b) another anti-cancer therapy. . In one embodiment, the present invention is directed to a method of treating a renal cancer in a subject in need thereof or a subject afflicted with a renal cancer, which method comprises administering to the subject a combination of therapeutically effective amounts of: (a) an anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof; and (b) another anti-cancer agent. In another embodiment, the present invention is directed to a method of treating a renal cancer or a subject afflicted with a renal cancer, which method comprises administering to the subject a combination of therapeutically effective amounts of: (a) an anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof; and (b) a standard of care therapy disclosed elsewhere herein. As RCC comprises approximately 90% of renal tumors, in some embodiments the renal cancer is RCC. In other some embodiments, the subject is a human patient.

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

31

[0103] In certain embodiments, the present invention is directed to a method of treating a renal cancer in a subject in need thereof or a subject afflicted with a renal cancer, which method comprises administering to the subject an anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof, wherein the subject is concurrently treated with another anti-cancer agent. In another embodiment, the present invention is directed to a method of treating a renal cancer in a subject in need thereof or a subject afflicted with a renal cancer, which method comprises administering to the subject an anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof, wherein the subject is concurrently treated with a standard of care therapy disclosed elsewhere herein. As RCC comprises approximately 90% of renal tumors, in some embodiments the renal cancer is RCC. In other some embodiments, the subject is a human patient.

[0104] In some embodiments, the PD-1 antibody or an antigen-binding portion thereof and/or the anti-CTLA-4 antibody or an antigen-binding portion thereof are administered in combination with one or more additional anti-cancer agents selected from a group consisting of VEGF-receptor (VEGFR) TKIs (*e.g.*, sorafenib, sunitinib, pazopanib, axitinib, and tivozanib), VEGF-binding mAbs and inhibitors (*e.g.*, bevacizumab, aflibercept, and ziv-aflibercept), mTOR inhibitors (*e.g.*, everolimus and temsirolimus), cytokines (*e.g.*, IFN- α , IFN-b2, Pegylated IFNb2 (PegIFN-b2), and IL-2), and mitotic inhibitors (*e.g.*, paclitaxel, docetaxel, vincristine, eribulin, estramustine, etoposide, ixabepilone, cabazitaxel, vincristine liposome, vinorelbine, vincristine, vinblastine, and teniposide). In some embodiments, the anti-cancer agent is any other agent described herein. In certain embodiments, the therapy of the present invention (*e.g.*, administration of an anti-PD-1 antibody or the administration of an anti-PD-1 antibody and another anti-cancer therapy) effectively increases the duration of survival of the subject. For example, the duration of survival of the subject is increased by at least about 1 month, at least about 2 months, at least about 3 months, at least about 4 months, at least about 5 months, at least about 6 months, at least about 7 months, at least about 8 months, at least about 9 months, at least about 10 months, at least about 11 months or at least about 1 year or more when compared to another subject treated with only either another therapy (*e.g.*, Bevacizumab or Temozolomide) or, in the case of combination therapy, only one of the two members of the combination therapy alone (*e.g.*, an anti-PD-1 antibody alone). In some embodiments, the duration of survival is increased by at least about 2 months. In

certain embodiments, the therapy of the present invention effectively increases the duration of progression-free survival of the subject. For example, the progression free survival of the subject is increased by at least about 1 month, at least about 2 months, at least about 3 months, at least about 4 months, at least about 5 months, at least about 6 months, at least about 7 months, at least about 8 months, at least about 9 months, at least about 10 months, at least about 11 months or at least about 1 year when compared to an untreated subject or a subject treated with only either another therapy (*e.g.*, Bevacizumab or Temozolomide) or, in the case of combination therapy, only one of the two members of the combination therapy alone (*e.g.*, an anti-PD-1 antibody alone). In some embodiments, the progression-free survival is increased by at least about 2 months. In certain embodiments, the therapy of the present invention effectively increases the response rate in a group of subjects. For example, the response rate in a group of subjects is increased by at least about 2%, at least about 3%, at least about 4%, at least about 5%, at least about 10%, at least about 15%, at least about 20%, at least about 25%, at least about 30%, at least about 35%, at least about 40%, at least about 45%, at least about 50%, at least about 55%, at least about 60%, at least about 70%, at least about 75%, at least about 80%, at least about 85%, at least about 90%, at least about 95%, at least about 99% or at least about 100% when compared to another group of subjects treated with only either another therapy (*e.g.*, Bevacizumab or Temozolomide) or, in the case of combination therapy, only one of the two members of the combination therapy alone (*e.g.*, an anti-PD-1 antibody alone), *i.e.*, monotherapy.

Anti-PD-1 and anti-PD-L1 antibodies suitable for use in the disclosed methods

[0105] Anti-PD-1 Abs suitable for use in the disclosed methods are Abs that bind to PD-1 with high specificity and affinity, block the binding of PD-L1 and or PD-L2, and inhibit the immunosuppressive effect of the PD-1 signaling pathway. In any of the therapeutic methods disclosed herein, an anti-PD-1 or anti-CTLA-4 "antibody" includes an antigen-binding portion or fragment that binds to the PD-1 or CTLA-4 receptor, respectively, and exhibits the functional properties similar to those of whole Abs in inhibiting ligand binding and upregulating the immune system. In certain embodiments, the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof cross-competes with nivolumab for binding to human PD-1. In other embodiments, the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof is a chimeric, humanized or human monoclonal Ab or a portion thereof. In certain

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

33

embodiments for treating a human subject, the Ab is a humanized Ab. In other embodiments for treating a human subject, the Ab is a human Ab. Abs of an IgG1, IgG2, IgG3 or IgG4 isotype may be used.

[0106] In certain embodiments, the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof comprises a heavy chain constant region which is of a human IgG1 or IgG4 isotype. In certain other embodiments, the sequence of the IgG4 heavy chain constant region of the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof contains an S228P mutation which replaces a serine residue in the hinge region with the proline residue normally found at the corresponding position in IgG1 isotype antibodies. This mutation, which is present in nivolumab, prevents Fab arm exchange with endogenous IgG4 antibodies, while retaining the low affinity for activating Fc receptors associated with wild-type IgG4 antibodies (Wang *et al.*, 2014). In yet other embodiments, the Ab comprises a light chain constant region which is a human kappa or lambda constant region. In other embodiments, the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof is a mAb or an antigen-binding portion thereof. In certain embodiments of any of the therapeutic methods described herein comprising administration of an anti-PD-1 Ab, the anti-PD-1 Ab is nivolumab. In other embodiments, the anti-PD-1 Ab is pembrolizumab. In other embodiments, the anti-PD-1 Ab is chosen from the human antibodies 17D8, 2D3, 4H1, 4A11, 7D3 and 5F4 described in U.S. Patent No. 8,008,449. In still other embodiments, the anti-PD-1 Ab is MEDI0608 (formerly AMP-514), AMP-224, or Pidilizumab (CT-011).

[0107] In other embodiments, the invention includes a method of treating a renal cancer in a subject in need thereof or a subject afflicted with renal cancer comprising administering an anti-PD-1 antagonist or an anti-PD-1 antagonist in combination with one or more anti-cancer agents described herein to treat cancer. In some embodiments, the renal cancer is a RCC. An "anti-PD-1 antagonist" as referred herein includes any molecule that inhibits interaction between PD-1 (receptor) and PD-L1 (ligand) such that the signal pathway of PD-1/PD-L1 is blocked. PD-L1 and PD-L2 are two ligands for PD-1 that has been identified. In one embodiment, an anti-PD-1 antagonist is an anti-PD-L1 antibody. PD-L1 and PD-L2 have been shown to down-regulate T cell activation upon binding to PD-1. Both PD-L1 and PD-L2 are B7 homologs that bind to PD-1, but do not bind to other CD28 family members. PD-L1 has been shown to be abundant in a variety of human cancers. The interaction between PD-1 and PD-L1 results in a decrease in

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

34

tumor infiltrating lymphocytes, a decrease in T-cell receptor mediated proliferation, and immune evasion by the cancerous cells. Immune suppression can be reversed by inhibiting the local interaction of PD-1 with PD-L1, and the effect is additive when the interaction of PD-1 with PD-L2 is blocked as well. In one embodiment, an anti-PD-L1 Ab may be substituted for the anti-PD-1 Ab in any of the therapeutic methods disclosed herein. In certain embodiments, the anti-PD-L1 Ab is BMS-936559 (formerly 12A4 or MDX-1105) (*see, e.g.*, U.S. Patent No. 7,943,743; WO 2013/173223). In other embodiments, the anti-PD-L1 Ab is MPDL3280A (also known as RG7446) (*see, e.g.*, Herbst *et al.* 2013; U.S. Patent No. 8,217,149) or MEDI4736 (Khleif, 2013).

[0108] In another embodiment, an anti-PD-1 antagonist is a soluble PD-1 protein. In other embodiments, an anti-PD-1 antagonist is a PD-1-Fc fusion protein. In some embodiments, the PD-1-Fc fusion protein is the result of the fusion of any PD-1 antibody described herein with an Ig Fc domain. In some embodiments, the Ig Fc domain is an IgG, IgA or an IgM domain. In some embodiments, fusion proteins may be created by chemical synthesis or by creation of a polynucleotide that encodes the desired fusion protein.

[0109] In certain embodiments, an anti-PD-1 antagonist includes an anti-PD-1 fusion protein, an antisense molecule, a small molecule, a ribozyme, or a nanobody that inhibits or prevents interaction between PD-1 and PD-L1.

Combination of an anti-PD-1 Ab with an anti-angiogenic TKI for treating RCC

[0110] In certain embodiments of the disclosed methods for treating RCC, the other anti-cancer agent, *i.e.*, the anti-cancer agent other than the anti-PD-1 Ab which is used in combination with the anti-PD-1 Ab, is an anti-angiogenic TKI. Various TKIs that have been approved for treating RCC or have demonstrated efficacy in clinical trials, including sorafenib, sunitinib, pazopanib, axitinib, and tivozanib, may be used in the disclosed combination therapy methods with an anti-PD-1 Ab. However, until the efficacy and safety of these combinations are assessed in pre-clinical or in clinical trials, there is the possibility that unexpected toxicities or lack of significantly enhanced efficacy relative to the monotherapies may result. The preclinical data disclosed herein in the Renca murine RCC model indicate that an anti-PD-1 Ab interacts synergistically with sunitinib to inhibit RCC tumor growth whereas the combination of an anti-PD-1 Ab and sorafenib did not significantly enhance the low level of anti-tumor activity of sorafenib in this murine

WO 2015/134605

35

PCT/US2015/018727

RCC model (Figures 1 and 2). Further to the demonstration that the combination of an anti-PD-1 Ab and sunitinib is highly effective in treating RCC in the murine model, the efficacy and safety of this combination, as well as the combination of nivolumab and pazopanib, in human RCC patients has been verified in clinical studies.

[0111] Example 5 provides interim results of an ongoing Phase 1 trial (NCT01472081; *see* Example 4) of nivolumab in combination with sunitinib or pazopanib in patients with mRCC. The data show that nivolumab in combination with either of these TKIs exhibit significantly higher antitumor activity in these patients and a manageable safety profile (*see* Figure 12). Accordingly, in certain embodiments of the present combination therapy methods, the anti-angiogenic TKI is sunitinib. In other embodiments, the TKI is pazopanib. In further embodiments, the TKI is axitinib. Axitinib is a highly selective, potent inhibitor of VEGF receptors 1, 2, and 3 that has a favorable toxicity profile (Sonpavde *et al.*, 2008) and been approved by the FDA for the treatment of advanced RCC after the failure of one prior systemic therapy. In other embodiments, the TKI is sorafenib. In yet further embodiments, the TKI is tivozanib. Tivozanib is a potent, selective, long half-life inhibitor of VEGFR-1, -2, and -3 that is undergoing clinical trials for the treatment of RCC. Axitinib and tivozanib have not been tested in either pre-clinical or clinical studies herein. However, based on their highly selective inhibition of all three VEGF receptors, which overlaps with the VEGFR inhibitory activity of sunitinib, pazopanib and sorafenib while minimizing off-target toxicities, both axitinib and tivozanib are excellent candidates for combining with an anti-PD-1 Ab in the disclosed therapeutic methods.

[0112] In certain embodiments, administration of the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof and anti-angiogenic TKI results in an increase in the infiltration of the cancer tissue by T cells compared to an untreated subject or a subject treated with a monotherapy, either of the anti-PD-1 antibody or the other anti-cancer agent. As described in Example 2, combination therapy can lead to an increase in the localization of, *e.g.*, CD4⁺ and CD8⁺ T cells into a renal tumor. This increase in T cell infiltration can be at least about 10%, at least about 20%, at least about 30%, at least about 40%, at least about 50%, at least about 60%, at least about 70%, at least about 80%, or at least about 90% greater than the level of T cell infiltration in an untreated subject or a subject treated with a monotherapy, either of the anti-PD-1 antibody or the other anti-cancer agent. The

WO 2015/134605

36

PCT/US2015/018727

disclosed methods can further result in increased T cell proliferation compared to an untreated subject or a subject treated with a monotherapy, either of the anti-PD-1 antibody or the other anti-cancer agent. T cell proliferation can be increased by at least about 10%, at least about 20%, at least about 30%, at least about 40%, at least about 50%, at least about 60%, at least about 70%, at least about 80%, or at least about 90%. The disclosed methods can also, in certain embodiments, lead to a decrease in T-regulatory cells compared to an untreated subject or a subject treated with a monotherapy, either of the anti-PD-1 antibody or the other anti-cancer agent.

[0113] In other embodiments, the disclosed methods for treating RCC decreases the number of monocytic myeloid-derived suppressor cells or increases the number of granulocytic myeloid cells, compared to an untreated subject or a subject treated with a monotherapy, either of the anti-PD-1 antibody or the other anti-cancer agent. In an embodiment, the monocytic myeloid-derived suppressor cells are characterized by $CD11b^+/Ly6C^{hi}/Ly6G^-$ expression or $CD11b^+/Ly6C^{low}/Ly6G^-$ expression. In another embodiment, the granulocytic myeloid cells are characterized by $CD11b^+/Ly6C^-/Ly6G^+$ expression. The number of monocytic myeloid-derived suppressor cells can decrease by at least about 5%, at least about 10%, at least about 15%, at least about 20%, at least about 25%, at least about 30%, at least about 40%, at least about 50%, at least about 60%, at least about 70%, at least about 80%, or at least about 90%. The number of granulocytic myeloid cells can increase by at least about 5%, at least about 10%, at least about 20%, at least about 30%, at least about 40%, at least about 50%, at least about 60%, at least about 70%, at least about 80%, or at least about 90%.

Dosages of anti-PD-1 Abs and anti-angiogenic TKIs used in combination therapy

[0114] In certain embodiments of the present combination therapy methods, the therapeutically effective dosage of the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof comprises a dose ranging from about 0.1 to about 10.0 mg/kg body weight which is administered by intravenous infusion about once per week, about once every 2 weeks, about once every 3 weeks, or about once a month, in combination with an anti-angiogenic TKI. In certain embodiments, the anti-PD-1 Ab is administered at a dose of 2 mg/kg once every 3 weeks. In other embodiments, the anti-PD-1 Ab is administered at a dose of about 5 mg/kg once about every 3 weeks.

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

37

- [0115] Dosages of sunitinib may comprise, for example, administration to an adult RCC patient of a dose ranging from about 25 to about 50 mg, in some embodiments 50 mg, in a 42-day cycle comprising daily administration for 28 days and no administration for 14 days, and repetition of the cycle for as long as clinical benefit is observed or until unmanageable toxicity or disease progression occurs. Alternatively, administration of the dose of 25 to 50 mg administration for 28 days and no administration for 14 days may be followed by daily administration of sunitinib at 37.5 mg for as long as clinical benefit is observed or until unmanageable toxicity or disease progression occurs. In some embodiments, sunitinib is administered at a dose of about 5, about 10, about 15, about 20, about 25, about 30, about 35, about 40, about 45, about 50, about 55, about 60, about 65, about 70 or about 75 mg/kg body weight.
- [0116] Pazopanib is administered at a dosage of about 50, about 100, about 200, about 300, about 400, about 500, about 600, about 700 or about 800 mg orally once daily in combination with the anti-PD-1 Ab. In some embodiments, pazopanib is administered at its recommended dose of 800 mg once daily without food.
- [0117] Dosages of TKIs other than sunitinib and pazopanib that have not been tested in the clinical trial in combination with the anti-PD-1 Ab are based on known therapeutic dosages. Thus, in some embodiments, sorafenib is administered at its recommended dosage of 400 mg orally twice a day. In some embodiments, axitinib (INLYTA®) is administered to patients at its recommended dose of 5 mg orally twice daily approximately 12 h apart. In some embodiments, tivozanib is administered at its recommended oral daily dose of 1.5 mg, 28 days on followed by 14 days off (Eskens *et al.*, 2011) or 21 days on followed by 7 days off (Nosov *et al.*, 2012).
- [0118] In embodiments, nivolumab is administered at about 2 or about 5 mg/kg by intravenous infusion on Days 1 and 22 of each 6-week (42-day) cycle in combination with the TKI, *e.g.*, sunitinib about 50 mg orally administered on Days 1 - 28 of each 42 day cycle, or pazopanib about 800 mg orally administered on Days 1 - 42 of each 42 day cycle. Other TKIs employed in the present methods are administered according to their approved or recommended dosage regimens. Treatment is continued as long as clinical benefit is observed or until unacceptable toxicity or disease progression occurs.
- [0119] The synergistic interaction observed in preclinical models between, for example, anti-PD-1 and sunitinib suggests that one or both of these therapeutics may be

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

38

administered to a patient at subtherapeutic dosages, *i.e.*, a dose of the therapeutic agent that is significantly lower than the usual or FDA-approved dose when administered as monotherapy for the treatment of the cancer. In certain embodiments of the disclosed invention, the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof is administered to a RCC patient at a subtherapeutic dose. In other embodiments, the TKI is administered at a subtherapeutic dose described herein. In further embodiments, the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof and the TKI are each administered at a subtherapeutic dose described herein.

[0120] The combination therapy of the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof and the other anti-cancer agent can be administered concurrently or in sequence (*e.g.*, the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof administered first and the other anti-cancer agent administered second or the other anti-cancer agent administered first and the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof administered second).

Combination of an anti-PD-1 Ab with an anti-CTLA-4 Ab for treating RCC

[0121] This disclosure also provides combination therapy methods for treating RCC wherein an anti-PD-1 Ab is combined with another anti-cancer agent which is an Ab or an antigen-binding portion thereof that binds specifically to CTLA-4 and inhibits CTLA-4 activity. It has been demonstrated herein (*see* Example 6) that the combination of the anti-PD-1 Ab, nivolumab, and the anti-CTLA-4 Ab, ipilimumab, produces a level of clinical activity, as measured by ORR, that is significantly higher than the activity observed with nivolumab or ipilimumab alone. Accordingly, in certain embodiments, the anti-CTLA-4 Ab that is used in combination with the anti-PD-1 Ab is ipilimumab. In embodiments, the anti-CTLA-4 Ab is tremelimumab. In other embodiments, the anti-CTLA-4 Ab or antigen-binding portion thereof is an Ab or portion thereof that cross-competes with ipilimumab for binding to human CTLA-4. In certain other embodiments, the anti-CTLA-4 Ab or antigen-binding portion thereof is a chimeric, humanized or human mAb or a portion thereof. In yet other embodiments, the anti-CTLA-4 Ab or antigen-binding portion thereof comprises a heavy chain constant region which is of a human IgG1 or IgG4 isotype. In embodiments, the anti-CTLA-4 Ab comprises a heavy chain constant region which is of a human IgG1 isotype.

[0122] For the combination of an anti-PD-1 and an anti-CTLA-4 Ab, the dosing regimen comprises an induction period (also referred to herein as an induction phase) during

which one or more, preferably about four, combination doses of the anti-PD-1 and anti-CTLA-4 Abs are administered to the patient, followed by a maintenance period or phase comprising dosing with the anti-PD-1 Ab alone, *i.e.*, not including the anti-CTLA-4 Ab. In certain embodiments, the method comprises (a) an induction phase, wherein the anti-PD-1 and anti-CTLA-4 antibodies or antigen-binding portions thereof are administered in combination in 2, 4, 6, 8 or 10 doses, each dose ranging from about 0.1 to about 10.0 mg/kg body weight administered at least once about every 2 weeks, once about every 3 weeks, or once about every 4 weeks, followed by (b) a maintenance phase, wherein no anti-CTLA-4 antibody or antigen-binding portion thereof is administered and the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof is repeatedly administered at a dose ranging from about 0.1 to about 10 mg/kg at least once about every 2 weeks, once about every 3 weeks, or once about every 4 weeks.

[0123] In certain embodiments, the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof is administered at a subtherapeutic dose. In certain other embodiments, the anti-CTLA-4 Ab or antigen-binding portion thereof is administered at a subtherapeutic dose. In further embodiments, both the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof and the anti-CTLA-4 Ab or antigen-binding portion thereof are each administered at a subtherapeutic dose. In some embodiments anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof and/or the anti-CTLA-4 Ab or antigen-binding portion thereof is administered at a therapeutic dose.

[0124] In certain embodiments, (a) the induction phase comprises at least 4 doses administered at 3-week intervals, wherein the anti-PD-1 and anti-CTLA-4 Abs are administered at the following dosages: (i) 0.1 mg/kg anti-PD-1 Ab and 3 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (ii) 0.3 mg/kg anti-PD-1 Ab and 3 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (iii) 1 mg/kg anti-PD-1 Ab and 3 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (iv) 3 mg/kg anti-PD-1 Ab and 3 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (v) 5 mg/kg anti-PD-1 Ab and 3 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (vi) 10 mg/kg anti-PD-1 Ab and 3 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (vii) 0.1 mg/kg anti-PD-1 Ab and 1 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (viii) 0.3 mg/kg anti-PD-1 Ab and 1 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (ix) 1 mg/kg anti-PD-1 Ab and 1 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (x) 3 mg/kg anti-PD-1 Ab and 1 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (xi) 5 mg/kg anti-PD-1 Ab and 1 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; or (xii) 10 mg/kg anti-PD-1 Ab and 1 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab, and (b) the maintenance phase comprises repeated administration of the anti-PD-1 Ab at a dose of 3 mg/kg every 2 weeks.

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

40

- [0125] Because of durability of the clinical effect previously demonstrated with immunotherapy by inhibition of immune checkpoints (*see, e.g.*, WO 2013/173223), the maintenance phase may include, in alternative embodiments, a finite number of doses, *e.g.*, 1-10 doses, or may involve dosing at long intervals, *e.g.*, once about every 3-6 months or once about every 1-2 years or longer intervals. The maintenance phase may be continued for as long as clinical benefit is observed or until unmanageable toxicity or disease progression occurs.
- [0126] Given the uncertainty of whether the ipilimumab administered past week 12 contributes to clinical benefit in melanoma and the fact that the U.S. Food and Drug Administration (FDA)- and European Medicines Agency (EMA)-approved schedule for YERVOY® is every 3 weeks for a total of 4 doses, in embodiments the anti-CTLA-4 Ab is administered during the induction phase once every 3 weeks for a total of 4 doses. Accordingly, in certain embodiments, the method comprises (a) an induction phase consisting of 4 combination doses administered at 3-week intervals, wherein (i) the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof is administered at 3 mg/kg body weight and the anti-CTLA-4 antibody or antigen-binding portion thereof is administered at 1 mg/kg body weight; (ii) the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof is administered at 1 mg/kg body weight and the anti-CTLA-4 antibody or antigen-binding portion thereof is administered at 3 mg/kg body weight; or (iii) the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof is administered at 3 mg/kg body weight and the anti-CTLA-4 antibody or antigen-binding portion thereof is administered at 3 mg/kg body weight; and (b) the maintenance phase comprises repeated administration of the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof at a dose of 3 mg/kg every 2 weeks. In further embodiments of these methods, the maintenance phase is continued for as long as clinical benefit is observed or until unacceptable or unmanageable toxicity or disease progression occurs.
- [0127] In certain embodiments of the present methods, the anti-PD-1 Ab is nivolumab. In other embodiments, it is pembrolizumab. In yet other embodiments, the anti-CTLA-4 Ab is ipilimumab. In further embodiments, the anti-CTLA-4 Ab is tremelimumab. Typically, the anti-PD-1 and anti-CTLA-4 Abs are formulated for intravenous administration. In some embodiments, the combination of the anti-PD-1 antibody or an antigen-binding portion thereof and the anti-CTLA-4 antibody or an antigen-binding portion thereof is

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

41

administered concurrently as a single composition or as separate compositions. In some embodiments, the anti-PD-1 and anti-CTLA-4 Abs are administered sequentially. In some embodiments, the anti-PD-1 and anti-CTLA-4 Abs are administered sequentially during the induction phase. In certain embodiments, when the anti-PD-1 and anti-CTLA-4 Abs are administered in combination, they are administered within 30 minutes of each other. Either Ab may be administered first, that is, in certain embodiments, the anti-PD-1 Ab is administered before the anti-CTLA-4 Ab, whereas in other embodiments, the anti-CTLA-4 Ab is administered before the anti-PD-1 Ab. Typically, each Ab is administered by intravenous infusion over a period of 60 minutes. In certain embodiments, the anti-PD-1 and anti-CTLA-4 Abs are administered concurrently, either admixed as a single composition in a pharmaceutically acceptable formulation for concurrent administration, or concurrently as separate compositions with each Ab in a pharmaceutically acceptable formulation.

[0128] Certain embodiments of the present methods comprise (a) an induction phase consisting of administration of nivolumab by intravenous infusion followed by administration of ipilimumab by intravenous infusion every 3 weeks for 4 combination doses, followed by (b) maintenance dosing with nivolumab administered by intravenous infusion every 2 weeks starting 3 weeks after the 4th dose of induction therapy or after Day 113 if the 4th dose of induction therapy has not been administered due to treatment delays.

[0129] In certain embodiments, a combination of the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof, an anti-angiogenic TKI, and an anti-CTLA-4 Ab or antigen-binding portion thereof can be administered to a subject for treating RCC. In some embodiments, the anti-angiogenic TKI is sorafenib, sunitinib, pazopanib, axitinib, or tivozanib. In certain embodiments, the anti-angiogenic TKI is sunitinib or pazopanib. In another embodiment, the anti-CTLA-4 ab is ipilimumab or tremelimumab. In one particular embodiment, the combination of the anti-PD-1 Ab or antigen-binding portion thereof, an anti-angiogenic TKI, and an anti-CTLA-4 Ab or antigen-binding portion thereof is administered at a dose selected from (i) 0.1 mg/kg anti-PD-1 Ab and 3 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (ii) 0.3 mg/kg anti-PD-1 Ab and 3 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (iii) 1 mg/kg anti-PD-1 Ab and 3 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (iv) 3 mg/kg anti-PD-1 Ab and 3 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (v) 5 mg/kg anti-PD-1 Ab and 3 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (vi) 10

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

42

mg/kg anti-PD-1 Ab and 3 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (vii) 0.1 mg/kg anti-PD-1 Ab and 1 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (viii) 0.3 mg/kg anti-PD-1 Ab and 1 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (ix) 1 mg/kg anti-PD-1 Ab and 1 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (x) 3 mg/kg anti-PD-1 Ab and 1 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; (xi) 5 mg/kg anti-PD-1 Ab and 1 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab; or (xii) 10 mg/kg anti-PD-1 Ab and 1 mg/kg of anti-CTLA-4 Ab, wherein the TKI is administered at about its recommended dose. For example, sunitinib can be administered at a dosage with the range of about 25 to about 50 mg, in some embodiments 50 mg; pazopanib can be administered at a dosage of about 200, about 400 or about 800 mg; sorafenib can be administered at a dosage of about 400 mg, twice daily; and tivozanib can be administered at its recommended oral daily dose of about 1.5 mg daily.

Combination of an anti-PD-1 Ab with other known anti-cancer drugs for treating RCC

[0130] One of skill in the art would recognize that the described methods of treating RCC with the anti-PD-1 antibodies or antigenic fragments thereof can be combined with other known treatments of RCC. For example, the anti-PD-1 Ab or antigenic fragment thereof can be combined with a mitotic inhibitor, such as paclitaxel, docetaxel, vincristine, eribulin, estramustine, etoposide, ixabepilone, cabazitaxel, vincristine liposome, vinorelbine, vincristine, vinblastine, or teniposide. Various cytokines are also known to be useful in treating cancer, including, as discussed above, IFN- α or IL-2. The anti-PD-1 Ab or antigenic fragment thereof can be combined with a cytokine, such as IFN- α , IFN- β , Pegylated IFN β (PegIFN- β 2), or IL-2. Other small molecule treatments known in the art may also be suitable, including, but not limited to, vinflunine. In some embodiments, the anti-PD-1 antibodies described herein, including combination treatments of anti-PD-1 antibodies and TKIs or anti-CTLA-4 antibodies, are used in combination with any other treatment described herein, including SOC treatments.

[0131] The anti-PD-1 antibodies can be administered in combination with one or more of the other known anti-cancer drugs described herein at a dosing that is standard for the particular anti-cancer drug. For example, pazopanib can be administered at a dosage of about 400 to about 800 mg; Axitinib can be administered at a dosage of about 1 mg, about 2 mg, about 3 mg, about 4 mg, about 5 mg, about 6 mg, about 7 mg, about 8 mg, about 9 mg, or at least about 10 mg; paclitaxel and/or docetaxel can be administered at a dosage of about 10 mg/m², about 25 mg/m², about 30 mg/m², about 35 mg/m², about 40 mg/m²,

WO 2015/134605

43

PCT/US2015/018727

about 45 mg/m², about 50 mg/m², about 75 mg/m², about 100 mg/m², about 125 mg/m², about 150 mg/m², about 175 mg/m², about 200 mg/m², about 225 mg/m², about 250 mg/m², about 275 mg/m², or at least about 300 mg/m²; and vinflunine can be administered at a dose of about 50 mg/m², about 75 mg/m², about 100 mg/m², about 125 mg/m², about 150 mg/m², about 175 mg/m², about 200 mg/m², about 225 mg/m², about 250 mg/m², about 275 mg/m², about 300 mg/m², about 325 mg/m², about 350 mg/m², about 375 mg/m², about 400 mg/m², about 425 mg/m², about 450 mg/m², about 475 mg/m², or at least about 500 mg/m².

Kits

[0132] Also within the scope of the present invention are kits comprising an anti-PD-1 Ab and a TKI for therapeutic uses. Kits typically include a label indicating the intended use of the contents of the kit and instructions for use. The term label includes any writing, or recorded material supplied on or with the kit, or which otherwise accompanies the kit. Accordingly, this disclosure provides a kit for treating a subject afflicted with a renal cancer, the kit comprising: (a) a dosage ranging from 0.1 to 10 mg/kg body weight of an anti-cancer agent which is an Ab or an antigen-binding portion thereof that specifically binds to the PD-1 receptor and inhibits PD-1 activity; (b) a dosage of another anti-cancer agent which is (i) an anti-angiogenic TKI, for example, sunitinib at a dosage of 12.5, 25 or 50 mg once daily on a schedule of four weeks on treatment followed by two weeks off treatment, pazopanib at a dosage of 200, 400 or 800 mg once daily, or sorafenib at a dosage of 400 mg once or twice daily; or (ii) a dosage ranging from 0.1 to 10 mg/kg body weight of an antibody or an antigen-binding portion thereof that specifically binds to and inhibits CTLA-4; and (c) instructions for using the anti-PD-1 Ab and the other anti-cancer agent in any of the combination therapy methods disclosed herein. In certain embodiments, the anti-PD-1, the anti-CTLA-4 Ab and/or the TKI may be co-packaged in unit dosage form. In certain embodiments for treating human patients, the kit comprises an anti-human PD-1 Ab disclosed herein, *e.g.*, nivolumab or pembrolizumab. In other embodiments, the kit comprises an anti-human CTLA-4 Ab disclosed herein, *e.g.*, ipilimumab or tremelimumab.

[0133] The present invention is further illustrated by the following examples which should not be construed as further limiting. The contents of all references cited throughout this application are expressly incorporated herein by reference.

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

44

EXAMPLE 1

*Treatment of Renal Cancer with Anti-PD-1 and TKIs in Mouse Model**Materials and Methods**Animals*

- [0134] Female 8-12 weeks old Balb/c and C57/BL6 mice (Harlan Laboratories, Frederick, MD) were used in all studies. Mice were housed in sterile microisolator cages and administered sterile food and water *ad libitum*, unless otherwise specified.

Reagents

- [0135] Sunitinib (SUTENT®) is an orally available, small-molecule, multikinase inhibitor targeting several receptor tyrosine kinases (including VEGFR-1, VEGFR-2 and VEGFR-3, PDGFR- α and - β , c-Kit, FLT-3, CSF-1R and RET) that is approved by the FDA for the treatment of renal cell carcinoma. Sunitinib has been reported to exhibit immunomodulatory effects, including a reduction in myeloid-derived suppressor cells (Ko *et al.*, 2009; Ko *et al.*, 2010) and a reduction in T-regulatory suppressor cells (Hipp *et al.*, 2008; Ozao-Choy *et al.*, 2009).
- [0136] Sorafenib (NEXAVAR®) is an orally available, small-molecule multikinase inhibitor (cRAF, BRAF, KIT, FLT-3, VEGFR-2, VEGFR-3, and PDGFR- β) that was approved by the FDA for the treatment of primary kidney cancer (advanced renal cell carcinoma), advanced primary liver cancer, and radioactive iodine-resistant advanced thyroid carcinoma. Sorafenib has been reported to inhibit T-cell proliferation by inducing apoptosis (Houben *et al.*, 2009; Molhoek *et al.*, 2009), reduce the induction of antigen-specific T cells and reduce dendritic cell maturation (Hipp *et al.*, 2008).
- [0137] The anti-PD-1 mAb, 4H2, is a chimeric rat-mouse anti-mouse PD-1 Ab (U.S. Patent No. 8,008,449) that was purified and certified to have < 0.5 EU/mg endotoxin level, > 95% purity and < 5% high molecular-weight species.
- [0138] The murine renal carcinoma (Renca) and murine colon adenocarcinoma (CT-26) tumor cell lines were maintained *in vitro* for less than 10 passages.

WO 2015/134605

45

PCT/US2015/018727

Efficacy studies

- [0139] Tumor cells were implanted subcutaneously (SC). When the mean tumor volume reached about 100 mm³, mice were randomized into groups of 8 animals. Vehicle (control), sunitinib (120 mg/kg) or sorafenib (200 mg/kg) was orally administered once daily for 14 days (*QDx14, PO*). MAb 4H2 was administered at 10 mg/kg every 4 days for a total of 4 treatments (*Q4Dx4*) intraperitoneally (*IP*). Tumors were measured twice weekly, and the tumor volume was calculated as length x (width²/2). Synergy was defined as excess over highest single agent (EOHSA), *i.e.*, a combination was considered synergistic if the antitumor effect was significantly greater than the effect observed with monotherapy ($P < 0.05$, Wilcoxon sign-rank test).

Results

- [0140] The effects of treatment with anti-PD-1 and sunitinib or sorafenib as monotherapy or combination therapy on the median volume of implanted RCC mouse tumors are shown in Figure 1. Sunitinib monotherapy showed activity in this Renca murine RCC model producing tumor growth inhibition (TGI) of 85% by the end of treatment (Day 33; *see* Table 1); however, tumors grew progressively after cessation of therapy (*see* Figure 1). When administered as monotherapy the anti-PD-1 mAb was inactive in this model, but the combination of anti-PD-1 and sunitinib produced significant antitumor activity (TGI of 101%) resulting in complete tumor regressions (Table 1) or marked delay in tumor growth up to the end of monitoring 50 days post-implantation (Figure 1). These results, which were observed in two independent studies of the same model, show a synergistic interaction between a nivolumab murine surrogate anti-PD-1 mAb and sunitinib in the murine RCC (Renca) tumor model since the effect of this combination in inhibiting tumor growth is considerably greater than the sum of the level of inhibition exhibited by each therapeutic agent individually.
- [0141] In contrast, whereas sorafenib monotherapy was active in this RCC model (62% TGI; Table 1), combination treatment with the anti-PD-1 mAb and sorafenib did not significantly enhance the anti-tumor activity of sorafenib in this murine model and did not result in synergistic efficacy (Figure 1).
- [0142] Figure 2 shows the time (in days) taken for the tumor to reach a volume of 500 mm³. Consistent with the data in Figure 1, the growth of tumors treated with the anti-PD-

WO 2015/134605

46

PCT/US2015/018727

1/sunitinib combination was significantly inhibited and these tumors took about 63 days to reach 500 mm³, significantly longer than the 19-34 days taken by tumors treated with the control, anti-PD-1 Ab, sunitinib, sorafenib, or anti-PD-1/sorafenib combination.

[0143] The percentage tumor growth inhibition, measured at 33 days post-implantation, is shown in Table 1. These data are consistent with the data shown in Figures 1 and 2, confirming that tumor growth is completely inhibited by the combination of anti-PD-1 and sunitinib, whereas the other treatments cause a lower level of tumor growth inhibition. The superior efficacy exhibited by the combination of anti-PD-1 and sunitinib over the combination of anti-PD-1 and sorafenib is consistent with the different immunomodulatory effects mediated by sunitinib and sorafenib, respectively, which suggest that sunitinib, but not sorafenib, is suitable for combination with immunotherapeutic approaches for treatment of cancer patients (*see Hipp et al.*, 2008). However, the effects of a combination of anti-PD-1 and sorafenib in human subjects may not entirely reflect the effects observed in the mouse RCC model, and this combination may be highly effective in treating human patients.

Table 1. Tumor growth inhibition (TGI) and objective response rate mediated by tested therapeutic agents 33 days after implantation

Treatment	% TGI	Objective Responses (ORs)
Control	-	-
Sunitinib (120 mg/kg QDx14 D)	85	0/8
Sorafenib (200 mg/kg QDx14 D)	62	0/8
Anti-PD-1 mAb 4H2 (10 mg/kg Q4Dx4)	51	0/8
Anti-PD-1 mAb 4H2 (10 mg/kg Q4Dx4) + sunitinib (120 mg/kg QDx14 D)	101	3/8 CR; 2/8 PR
Anti-PD-1 mAb 4H2 (10 mg/kg Q4Dx4) + sorafenib (200 mg/kg QDx14 D)	77	2/8 CR

CR = complete regression; PR = partial regression

[0144] The effects of the various treatments on overall body weight of the mice are shown in Figure 3. The combination of anti-PD-1 and sunitinib was well tolerated, as

WO 2015/134605

47

PCT/US2015/018727

evidenced by a lack of decrease in body weight of the mice. The combination of anti-PD-1 and sorafenib was also well tolerated, though apparently slightly less so than the combination of anti-PD-1 and sunitinib as the sorafenib combination caused a small but noticeable reduction in body weight.

EXAMPLE 2

Immune Cell Infiltration of Tumors Post-Treatment with Anti-PD-1 and Sunitinib

Materials and Methods

[0145] Immunohistochemistry and flow cytometry analyses were used to assess immune cell infiltration of tumors.

Immunohistochemistry

[0146] Frozen sections were fixed in an acetone/methanol mix and rinsed in phosphate-buffered saline (PBS). Sections were blocked for endogenous peroxidase and the primary antibodies (anti-CD8, anti-CD4, anti-FoxP3, and anti-PD-L1) were added and incubated overnight. Chromogenic development was done using a brown polymer-based detection system (Biocare Medical), with hematoxylin used as a blue counter stain for visualization of cellular nuclei.

Immunophenotyping by flow cytometry

[0147] Tumor-infiltrating immune cells were isolated and prepared as a single-cell suspension, then stained and analyzed via flow cytometry for expression of T-cell subsets (regulatory and activated) and myeloid cells (*i.e.*, for expression of CD3, CD4, CD8, FoxP3, CD25, and CD69).

Results

[0148] In control mice, immunohistochemical (IHC) analysis detected CD4⁺ and CD8⁺ T cells in the tumor periphery (Figure 4). When animals were dosed with sunitinib, there was an influx of CD4⁺ and CD8⁺ T cells predominantly to the periphery and along the vasculature. In contrast, greater infiltration of CD4⁺ and CD8⁺ T cells was observed throughout the tumor when the mice were dosed with the combination of anti-PD-1 mAb and sunitinib. The combination of anti-PD-1 mAb and sunitinib resulted in greater

WO 2015/134605

48

PCT/US2015/018727

numbers of tumor-infiltrating CD4⁺ and CD8⁺ T cells compared with each agent alone or control vehicle (Figure 4). In contrast, increased T-cell infiltration into the tumor was not observed with anti-PD-1 mAb or sorafenib alone, or with the combination of anti-PD-1 mAb and sorafenib, versus the control group (data not shown). Sunitinib and sorafenib have been shown to exhibit immunomodulatory effects, which may be implicated in the different therapeutic effects observed when these agents are combined with the anti-PD-1 Ab immune checkpoint inhibitor.

[0149] Flow cytometry analyses of tumor-infiltrating immune cells showed marked differences within the groups treated with anti-PD-1 mAb in combination with sunitinib or sorafenib (Figures 5-7). Compared to the combination of anti-PD-1 mAb and sorafenib, the combination of anti-PD-1 mAb and sunitinib resulted in (i) a greater frequency of proliferating CD4⁺/Ki67⁺, CD8⁺, and CD8⁺/Ki67⁺ ($P < 0.05$; Figures 5 and 6); (ii) reduced percentages of monocytic myeloid-derived suppressor cells, as defined by CD11b⁺/Ly6C^{hi}/Ly6G⁻ ($P < 0.05$), monocytic cells expressing CD11b⁺/Ly6C^{low}/Ly6G⁻, or both ($P < 0.05$; Figure 7); and (iii) an increased percentage of granulocytic myeloid cells CD11b⁺/Ly6C⁻/Ly6G⁺ ($P < 0.05$; Figure 7). Thus, treatment with the combination of sunitinib and anti-PD-1 mAb induced changes in the composition of the tumor microenvironment that may support an effective antitumor immune response. Low numbers of T-regulatory cells (CD45⁺/CD4⁺/CD25⁺/FoxP3⁺) were detected across the experimental groups, making it difficult to determine treatment effects (data not shown).

EXAMPLE 3

Enhancement of In Vivo Cytotoxicity of Antigen-Specific Immune Response

Materials and Methods

Cytotoxicity assay

[0150] The CT26 murine colon cancer model that expresses the AH1 antigen was used in experiments to determine whether treatments had any effect on antigen-specific T cells. Five days following SC implantation with CT26 cells, mice were treated with vehicle or anti-PD-1 mAb 10 mg/kg, 2 doses given 3 days apart (*Q3Dx2*), IP with or without sunitinib 120 mg/kg once daily for 5 days (*QDx5*). Cell killing was determined on days 2 and 4 following final treatment.

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

49

[0151] One day prior to assay, splenocytes from naive BALB/c donors were incubated with or without CT26 peptide ([H] SPSYVYHQF [OH]; Sigma-Genosys) and labeled with 5(6)-carboxyfluorescein diacetate N-succinimidyl ester (CFSE, Sigma-Aldrich). Antigen-pulsed and non-pulsed cells were combined (1:1) and injected into treated mice. The percentage cell killing was determined via flow cytometry 24 h later.

Results

[0152] In the CT26 tumor model, the combination of anti-PD-1 mAb and sunitinib resulted in enhanced *in vivo* cytotoxicity to an antigen-specific immune response (Figure 8). This enhanced cytotoxicity showed an increased immune response component. It also correlated with a reduction in tumor volume (Figure 9).

EXAMPLE 4

Phase 1 Clinical Trial to Treat Metastatic RCC with Nivolumab in Combination with Sunitinib, Pazopanib, or Ipilimumab

[0153] Collectively, the data disclosed in Examples 1-3 support the investigation of a combination of an anti-PD-1 Ab, such as nivolumab or pembrolizumab, with an anti-angiogenic TKI such as sunitinib, pazopanib, sorafenib, axitinib or tivozanib for treating subjects with RCC. These data suggest that the immunomodulatory properties of sunitinib may lead to changes in the tumor microenvironment that support an effective antitumor immune response, which could be expanded and enhanced by an anti-PD-1 Ab. Although combination therapy with the anti-PD-1 mAb and sorafenib did not significantly enhance the anti-tumor activity of sorafenib in the murine RCC model and did not result in synergistic efficacy (Figure 1), the combination was well tolerated and could be effective in human patients. The safety and efficacy of nivolumab combined with sunitinib, pazopanib, or ipilimumab are currently being assessed in an ongoing Phase 1 study (NCT01472081) in subjects with mRCC. Pazopanib is an orally available multikinase inhibitor (VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, PDGFR- α and - β , and c-KIT), and the combination of nivolumab and ipilimumab has shown significantly enhanced efficacy in the treatment of melanoma compared to monotherapy with nivolumab (Wolchok *et al.*, 2013; WO 2013/173223).

WO 2015/134605

50

PCT/US2015/018727

[0154] The primary objectives of this Phase 1 study are to assess the overall safety and tolerability of nivolumab plus sunitinib, pazopanib or ipilimumab to determine the MTD and recommended Phase 2 dose of each combination in RCC patients. Secondary objectives are to assess the preliminary antitumor activity of the combinations, and an exploratory objective is to determine whether response correlates with baseline PD-L1 expression.

Methods

Study Design

[0155] A Phase 1 open-label study of nivolumab plus sunitinib, pazopanib or ipilimumab in subjects with mRCC is ongoing. The trial includes 5 parallel treatment arms: nivolumab plus sunitinib (Arm S), nivolumab plus pazopanib (Arm P), nivolumab 3 mg/kg plus ipilimumab 1 mg/kg (Arm I-1), nivolumab 1 mg/kg plus ipilimumab 3 mg/kg (Arm I-3), and nivolumab 3 mg/kg plus ipilimumab 3 mg/kg (Arm IN-3). Treatment for Arm S and Arm P is being conducted in two parts dose escalation (previously treated subjects) followed by dose expansion (treatment-naïve subjects). Treatment for the I-1 and I-3 arms is a single initial cohort in each arm consisting of both previously treated as well as treatment-naïve subjects. Expansion cohorts of arms I-1 and I-3, as well as arm IN-3 consists of minimally treated (including treatment-naïve) subjects. The study design for Arm S and Arm P is summarized in Figure 10A, and the study design for Arms I-1, I-3 and IN-3 is summarized in Figure 10B.

Study Population

[0156] The study population consists of subjects ≥ 18 years old with histologically confirmed metastatic renal cell carcinoma with a clear-cell component who have at least one measurable lesion as defined by Response Evaluation Criteria for Solid Tumors (RECIST) 1.1. Non-clear cell RCC subjects, with measurable lesion as defined by RECIST 1.1, are allowed in the dose escalation cohorts of Arm S and Arm P only. Favorable or intermediate-risk MSKCC (Memorial Sloan Kettering Cancer Center) prognostic score and Karnofsky performance status (KPS) $\geq 80\%$ are also required for Arms S, P, and I-1 and I-3 original cohorts, (for Arms I-1 and I-3 expansion and IN-3 any MSKCC prognostic score is acceptable).

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

51

Arm S and Arm P

[0157] Subjects must have received at least one prior systemic therapy regimen in the advanced/metastatic setting to be eligible for the dose-escalation part of the study, while subjects must be treatment-naïve to be eligible for the dose-expansion part of the study. Subjects participating in the dose-escalation phase who received prior pazopanib are assigned to receive nivolumab plus sunitinib, while subjects who received prior sunitinib are assigned to receive nivolumab plus pazopanib. Subjects who have received both prior pazopanib and sunitinib are not eligible. Also excluded from the study are subjects chronically treated with systemic steroids or any other immunosuppressive agents, or those previously treated with anti-PD-1, anti-PD-L1, or anti-PD-L2, anti-CD137, anti-CTLA-4, or similar agent.

[0158] Subjects who have not received prior sunitinib or pazopanib may enroll on either dose-escalation arm and are assigned to these arms in an alternating fashion when both arms are open. Approximately 36 subjects (18 subjects per arm) are expected to be treated in the dose-escalation part of the study. At completion of the escalation cohorts, MTD is assessed based on the modified toxicity probability interval (mTPI) design. If, in either Arm S or Arm P, the MTD of nivolumab is determined to be < 5 mg/kg, the arm will not be further expanded to collect safety data in treatment-naïve subjects. If the MTD of nivolumab in combination with sunitinib or pazopanib is determined to be 5 mg/kg or higher, separate expansion cohorts in the respective arm(s) will be opened for enrollment at the 5 mg/kg dose. In the expansion cohort(s) of Arm S and Arm P, only treatment-naïve subjects are enrolled so that approximately 20 treatment-naïve subjects are treated per arm. Each treatment cycle is 6 weeks in duration, with nivolumab dosed on Days 1 and 22 and anti-angiogenic therapy dosed according to the approved product label for sunitinib (50 mg daily; 4 weeks on, 2 weeks off) and pazopanib (800 mg daily).

Dose escalation for Arm S and Arm P

[0159] Dose levels are defined in Tables 2 and 3. Intra-patient dose escalation of nivolumab is not permitted.

WO 2015/134605

52

PCT/US2015/018727

Table 2. Dose levels for dose-escalation of nivolumab plus sunitinib

Dose Level	Nivolumab (mg/kg)	Sunitinib (mg)
-1 ^a	0.3	50
1	2.0	50
2	5.0	50

^a Dose Level -1 will only be enrolled if de-escalation is required at dose level 1

Table 3. Dose levels for dose-escalation of nivolumab plus pazopanib

Dose Level	Nivolumab (mg/kg)	Pazopanib (mg)
-1 ^a	0.3	800
1	2.0	800
2	5.0	800

^a Dose Level -1 will only be enrolled if de-escalation is required at dose level 1

[0160] The starting dose of nivolumab for each dose-escalation arm is 2 mg/kg. Initially, 7 eligible subjects per arm were treated at Dose Level 1. A decision as to whether additional subjects will be treated at the same dose level or escalate to a higher dose level (5 mg/kg) will be guided by the number of dose-limiting toxicities (DLTs) observed during the DLT observation period. Subjects who do not complete the DLT period for reasons other than dose-limiting toxicities will be replaced. Dose Level -1 (0.3 mg/kg) may be considered if the safety and tolerability profile for 2 mg/kg is not acceptable.

[0161] As a Phase I dose-escalation trial for Arm S and Arm P, the sample size at each dose in these arms depends on observed toxicity and posterior inference. A total of 18 subjects are expected to be treated during the dose-escalation phase in each arm. However, there may be more than 18 subjects treated per arm due to replacement, or less than 18 subjects treated per arm due to toxicity at the lowest dose level.

WO 2015/134605

53

PCT/US2015/018727

Dose expansion for Arm S and Arm P

[0162] Once the safety profile and tolerability of all doses tested have been characterized and the MTD of combined administration of nivolumab plus sunitinib and nivolumab plus pazopanib has been defined for a given treatment arm, cohort expansion is initiated at 5mg/kg for that arm only if the nivolumab dose at the MTD is 5 mg/kg or higher. If, in any arm, the MTD of nivolumab is determined to be < 5 mg/kg, the arm will not be further expanded. An additional 20 subjects per treatment arm will be treated at the 5 mg/kg dose level for nivolumab in combination with sunitinib or pazopanib to gain additional safety information.

For Arm I-1 and I-3 (first cohort)

[0163] Both prior-treated and treatment-naïve subjects are eligible to be enrolled, with approximately 20 subjects treated in each arm, but subjects previously treated with anti-PD-1, anti-PD-L1, or anti-PD-L2, anti-CD137, anti-CTLA-4, or other similar agent were excluded. Doses for the I-1, I-3 and IN-3 arms are detailed below in Table 4. Intra-patient dose escalation or de-escalation is not permitted for either drug.

Table 4. Dose levels for combinations of nivolumab plus ipilimumab

Arm	Nivolumab (mg/kg)	Ipilimumab (mg/kg)
I-1	3.0	1.0
I-3	1.0	3.0
IN-3	3.0	3.0

[0164] Each treatment cycle is 6 weeks in duration. Nivolumab and ipilimumab are dosed every 3 weeks for four doses, then nivolumab is dosed every 2 weeks starting 3 weeks after the 4th dose of induction therapy or after Day 113 if the 4th dose of induction therapy has not been administered due to treatment delays.

[0165] Approximately 20 subjects per arm will be enrolled and treated in the initial cohort of subjects in I-1 and I-3. These arms will be expanded to a total of 45 subjects treated each arm (with additional 25 subjects treated in expansion cohorts each arm) to better evaluate the safety and efficacy.

WO 2015/134605

54

PCT/US2015/018727

For Arm I-1, I-3 (expansion cohort) and Arm IN-3

- [0166] Minimally treated (including treatment-naïve) subjects are eligible to be enrolled, with approximately 25 subjects treated in each Arm. Each treatment cycle is 6 weeks in duration. Nivolumab and ipilimumab are dosed every 3 weeks for four doses, then nivolumab is dosed every 2 weeks starting 3 weeks after the 4th dose of induction therapy or after Day 113 if the 4th dose of induction therapy has not been administered due to treatment delays.

Assignment of prior-treated subjects to treatment arms

- [0167] Subjects who have received prior treatment in the advanced or metastatic setting are assigned to the dose-escalation cohorts of Arm S and P as described above. Subjects who have received at least one prior systemic therapy, provided they do not qualify for escalation-phase Arm S and/or P when those arms are open, are assigned in an alternating fashion to the two ipilimumab combination arms (I-1 and I-3) when both of these arms are open. If only one arm is open, these subjects are assigned to the open arm.

Assignment of treatment-naïve subjects to treatment arms

- [0168] If all four arms (expansion Arm S and P; I-1 and I-3) are open for enrollment, treatment-naïve subjects are randomly assigned to one of the open arms in a 1:1:1:1 ratio until enrollment is complete.

Assignment of minimally treated subjects to treatment arms

- [0169] For I-1 and I-3 expansion and IN-3, minimally treated (including treatment-naïve) subjects are randomly assigned to one of the open arms in a 1:1:1 ratio until enrollment is complete. Adverse events are graded according to NCI CTCAE v4.0. Disease assessments take place every 6 weeks ($\pm$ 1 week) from the first dose of study drug for the first four assessments, and then every 12 weeks ($\pm$ 1 week) until disease progression. Response evaluation is performed according to RECIST 1.1. For the dose-escalation phase of Arm S and Arm P, subjects are treated until unacceptable toxicity, disease progression, or withdrawal of informed consent.

WO 2015/134605

55

PCT/US2015/018727

*Study Assessments**Safety outcome measures*

- [0170] Safety/tolerability outcome measures and determination of MTD for the combinations are the primary endpoints for this study. Key safety assessments include (1) incidence of adverse events (AEs) occurring up to 100 days after the last dose of study drug (or longer for drug-related AEs that have not resolved, stabilized, returned to baseline or been deemed irreversible by 100 days after the last dose), (2) incidence of serious adverse events (SAEs) occurring up to 100 days after the last dose of study drug (or longer for drug-related SAEs that have not resolved, stabilized, returned to baseline or been deemed irreversible by 100 days after the last dose), and (3) frequency of laboratory test by worst toxicity grade including hematology, serum chemistry, and urinalysis tests (assessed at screening, baseline, Days 1, 8, 22, and 29 of cycles 1-4, Days 1 and 22 of cycle 5 for Arm S and Arm P; assessed at screening, baseline, Days 1, 8, 22, and 29 of cycles 1-2, Days 1, 15 and 29 of cycle 3+ for Arm I-1 and Arm I-3; assessed at end of treatment and follow-up visit 100 days after last dose for all arms).

Efficacy outcome measures

- [0171] Antitumor activity is the secondary endpoint for this study and is measured by objective response rate (ORR) and duration of response (DOR) based on RECIST 1.1. Tumor response is based on tumor assessment at screening, every 6 weeks ($\pm$ 1 week) from the first dose of study drug for the first 4 assessments and then every 12 weeks ($\pm$ 1 week) thereafter until disease progression.

EXAMPLE 5

Antitumor Activity Exhibited in S and P Arms

- [0172] Seven subjects were treated on each of arms S N2 and S N5, receiving nivolumab (2 or 5 mg/kg, respectively) in combination with S (50 mg, 4 weeks on, 2 weeks off) until progression or unacceptable toxicity. No DLTs were observed and MTD was not reached. Thus, based on tolerability, the S N5 arm was expanded by 19 additional treatment-naïve patients (total n=33 for S arms). Arm P enrolled 20 subjects at N2, receiving 2 mg/kg nivolumab in combination with P (800 mg daily). Four 4 DLTs (elevated ALT/AST

WO 2015/134605

56

PCT/US2015/018727

[n=3], fatigue [n=1]) were observed, leading to closure of this arm. The dose escalation performed is illustrated in Figure 11.

[0173] Seven subjects in the S N2 arm, 26 in the S N5 arm, and 20 in the P N2 arm were evaluable for response by the March 2014 database lock. Clinical activities (ORs: confirmed complete [CR] or partial [PR] responses) were observed in all arms as shown in Table 5. The number of evaluable subjects treated with sunitinib and 2 mg/kg nivolumab is small (7 patients), but 1 (14%) of these showed a complete response, 5 (71%) showed partial responses, and 1 (14%) had stable disease. Overall, of the 33 evaluable subjects treated with sunitinib and both concentrations of nivolumab (2 mg/kg and 5 mg/kg), 18 (55%) showed a confirmed objective response (OR). Of the 20 evaluable subjects treated with pazopanib and 2 mg/kg nivolumab, 9 (45%) showed a confirmed OR. Responses occurred by first assessment (6 weeks) in 41% (arm S) and 56% (arm P) of responding subjects. ORR and corresponding 2-sided exact 95% CIs were calculated by the method of Clopper and Pearson.

Table 5. Tumor response in RCC patients treated with nivolumab and sunitinib or pazopanib

	SUN + NIV2 (N = 7)	SUN + NIV5 (N = 26)	SUN + NIV (N = 33)	PAZ + NIV2 (N = 20)
BOR				
CR, n (%)	1 (14)	0	1 (3)	0
PR, n (%)	5 (71)	12 (46)	17 (51)	9 (45)
Unconfirmed CR, n	0	0	0	0
Unconfirmed PR, n (%)	0	0	0	0
SD, n (%)	1 (14)	9 (35)	10 (30)	7 (35)
PD, n (%)	0	1 (4)	1 (3)	4 (20)
UD, n (%)	0	4 (15)	4 (12)	0
Confirmed ORR (A), n (%)	6 (86)	12 (46)	18 (55)	9 (45)
95% CI	(42.1-99.6)	(26.6-66.6)	(36.4-71.9)	(23.1-68.5)
Overall ORR (B), n (%)	6 (86)	12 (46)	18 (55)	9 (45)
95% CI	(42.1-99.6)	(26.6-66.6)	(36.4-71.9)	(23.1-68.5)

WO 2015/134605

57

PCT/US2015/018727

	SUN + NIV2 (N = 7)	SUN + NIV5 (N = 26)	SUN + NIV (N = 33)	PAZ + NIV2 (N = 20)
Median DOR, weeks (95% CI)			66.3 (18.1- 118+) ^a	30.1 (12.1- 117.11+) ^b

BOR: Best Overall Response; CR: Complete Response; PR: Partial Response; SD: Stable Disease; PD: Progressive Disease; UD: Unable to Determine; CI: Confidence Interval; (A): CR only; (B): CR + Unconfirmed Response; Unconfirmed Response: Ongoing subjects with tumor response indicated at last tumor assessment; DOR: Duration of Response.

[0174] Duration of response was 18.1-118++ weeks in arm S and 12.1 to 117.1++ weeks in arm P. Stable disease rate was 30% (n=10) in arm S and 35% (n=7) in arm P. Median duration of response and corresponding 2-sided 95% CIs were determined using the Kaplan-Meier method.

[0175] The effects on tumor burden for the evaluable subjects in the S and P arms are illustrated by spider plots (Figures 12A-C) and a waterfall plot (Figure 12D).

[0176] The confirmed ORRs shown in Table 5, ranging from 45% for the PAZ + NIV2 arm to 86% for the SUN + NIV2 arm are significantly higher than the ORRs seen with nivolumab or sunitinib or pazopanib monotherapy. For example, WO 2013/173223 discloses an ORR of about 28-31% with nivolumab (1 or 10 mg/kg) alone for treatment of RCC in a Phase 1 study. In more recent analyses, Motzer *et al.* (2014) report ORRs of 20, 22 and 20% in a Phase 2 trial for treatment of metastatic RCC with nivolumab administered to the patients at 0.3, 2 and 10 mg/kg, respectively. Choueiri *et al.* (2014) report that nivolumab administered at 0.3, 2 and 10 mg/kg produced ORRs of 9, 23 and 22%, respectively, in metastatic RCC patients pretreated with 1-3 prior anti-angiogenic therapies, whereas 10 mg/kg nivolumab produced an ORR of 13% in treatment-naïve patients. For the TKIs, a historical ORR of about 27.5% has been observed with sunitinib alone (*see, e.g.,* Motzer *et al.*, 2007; 2013) and about 30% with pazopanib alone (*see, e.g.,* Sternberg *et al.*, 2010; Motzer *et al.*, 2013).

[0177] At first assessment (6 weeks), 7 of 17 subjects (41.2%) in the S arm were responders, whereas 5 of 9 subjects (55.6%) in the P arm were responders. Ongoing responders comprise 10 out of 17 subjects (58.8%) in the S arm and 3 of 9 subjects (33.3%) in the P arm.

WO 2015/134605

58

PCT/US2015/018727

Progression-free survival in S and P Arms

[0178] A plot of the proportion of progression-free survival (PFS) versus time is shown in Figure 13. PFS rates at 24 weeks were 79% for arm S and 55% for arm P. The median PFS for the S arm (S + N; n=33) was 55.3 weeks (95% CI 47.9-72.4 weeks) and for the P arm (P + N; n=20) was 31.4 weeks (95% CI 12.1-48.1 weeks).

Objective response rate by baseline PD-L1 expression

[0179] Tumor tissue collection was retrospective (33 samples were available for the S arm and 20 samples for the P arm). Surface PD-L1 expression was measured by a Dako immunohistochemical assay using rabbit anti-human PD-L1 mAb, 28-8 (WO 2013/173223). The cut-off for a positive PD-L1 signal was either 1% or 5% of tumor membrane staining. The ORR observed in patients in the two arms, classified according to PD-L1 expression status, is shown in Table 6.

Table 6. Objective response rate (ORR) in RCC patients treated with the combination of nivolumab and sunitinib or pazopanib, and PD-L1 tumor expression status

Arm	PD-L1 cut-off	PD-L1 status	ORR ^a , n/N (%)
S	1% tumor membrane staining	+	6/15 (40.0)
		-	10/14 (71.4)
	5% tumor membrane staining	+	1/5 (20.0)
		-	15/24 (62.5)
P	1% tumor membrane staining	+	3/7 (42.9)
		-	5/10 (50.0)
	5% tumor membrane staining	+	1/2 (50.0)
		-	7/15 (46.7)

^aORR of PD-L1 evaluable patients; ORR includes complete or partial responders determined by RECIST.

[0180] These data show that the response of RCC patients to the combination of nivolumab and sunitinib or pazopanib does not correlate with tumor expression of PD-L1.

[0181] Adverse events in S and P Arms

[0182] Grade 3-4 related adverse events (AEs) were observed in 27/33 patients (82%) in arm S and 14/20 patients (70%) in arm P. Most toxicities were consistent with the known

WO 2015/134605

59

PCT/US2015/018727

profile of TKIs. The most common related grade 3-4 AEs included elevated ALT and hypertension (18% each), hyponatremia and decreased lymphocyte count (15% each) in arm S, and elevated ALT and AST and diarrhea (20% each) and fatigue (15%) in arm P. Grade 3 pneumonitis occurred in 1 patient (arm S, N5). Grade 3-4-related AEs led to therapy discontinuation in 11/33 patients (33%; 3 N2, 8 N5) in arm S and 4/20 patients (20%) in arm P. No grade 5 treatment-related AEs were observed. Hepatotoxicities were manageable using treatment algorithms.

- [0183] Overall, the clinical data indicate that the combination of nivolumab and sunitinib exhibits encouraging antitumor activity and a manageable safety profile in patients with mRCC. Arm P was closed due to DLTs.

EXAMPLE 6

Antitumor Activity Exhibited in Ipilimumab Arms

- [0184] Patients with mRCC (favorable or intermediate MSKCC score; Karnofsky performance status $\geq 80\%$; untreated or any number of prior therapies except prior immuno-oncology treatments) were randomized to different treatment arms. Forty-seven subjects treated with 1 mg/kg ipilimumab and 3 mg/kg nivolumab (I-1 arm), 47 subjects treated with 3 mg/kg ipilimumab and 1 mg/kg nivolumab (I-3 arm), and six subjects treated with 3 mg/kg ipilimumab and 3 mg/kg nivolumab (IN-3) were evaluable for response. Most patients (n=54; 54%) had prior systemic therapy (I-1: 22; I-3: 26; IN-3: 3). ORs were observed in the I-1 and I-3 arms as shown in Table 7. ORR and corresponding 2-sided exact 95% CIs were calculated by the method of Clopper and Pearson. Overall, 16 (34%) patients in the I-1 arm showed a confirmed OR whereas 17 (36%) of patients in the I-3 arm showed a confirmed OR.

- [0185] These ORRs are significantly higher than the ORR seen with nivolumab alone (WO 2013/173223; Motzer *et al.*, 2014; Choueiri *et al.*, 2014; *see* Example 5) or ipilimumab alone. Treatment of metastatic RCC patients with ipilimumab monotherapy in a Phase 2 trial resulted in an ORR of 5% in cohort A (3 mg/kg loading dose followed by 1 mg/kg every 3 wk) and 12.5% in cohort B (3 mg/kg every 3 wk for all doses) although there were disparities in the characteristics of these 2 groups, preventing direct comparisons of efficacy (Yang *et al.*, 2007).

WO 2015/134605

60

PCT/US2015/018727

[0186] The median duration of response (DOR) was 53.9 weeks in the I-3 arm and was not reached in the I-1 arm. Stable disease (SD) as best overall response was seen in 19 (40%) (I-1) and 18 (38%) (I-3) patients.

[0187] The effects on tumor burden for the evaluable subjects are illustrated by spider plots (Figures 14A-C) and a waterfall plot (Figure 14D). A comparison of waterfall plots for subjects treated in the S, P and I arms is shown in Figure 15.

Table 7. Tumor response in RCC patients treated with nivolumab and sunitinib or pazopanib

	IPI1 + NIV3 (N = 47)	IPI3 + NIV1 (N = 47)	IPI3 + NIV3 (N = 6)
BOR, n (%)			
CR	1 (2)	1 (2)	0
PR	15 (32)	16 (34)	0
Unconfirmed CR	0	0	0
Unconfirmed PR	2 (4)	3 (6)	0
SD	19 (40)	18 (38)	5 (83)
PD	9 (19)	7 (15)	1 (16.7)
UD	1 (2)	2 (4)	0
Confirmed ORR (A), n (%)	16 (34)	17 (36)	0
95% CI	(20.9-49.3)	(22.7-51.5)	
Overall ORR (B), n (%)	18 (38)	20 (43)	0
95% CI	(24.5-53.6)	(28.3-57.8)	
Median PFS, weeks (95% CI)	30.3 (4.7+, 72.6+)	36.0 (4.1, 77.9+)	NR (7.0, 28.1+)
24-week PFS, % (95% CI)	NC	NC	NC
Median DOR, weeks	NR	53.9	NC
(Range) ^a weeks	(4.1+ - 67.1+)	(6.1+-66.0+)	
Ongoing responses, % (n/N)	94 (15/17)	71 (12/17)	

WO 2015/134605

61

PCT/US2015/018727

BOR: Best Overall Response; CR: Complete Response; PR: Partial Response; SD: Stable Disease; PD: Progressive Disease; UD: Unable to Determine; CI: Confidence Interval; (A): CR only; (B): CR + Unconfirmed Response; Unconfirmed Response: Ongoing subjects with tumor response indicated at last tumor assessment; PFS: Progression-Free Survival, DOR: Duration of Response; NR: Not Reached; ^aDue to the high percentage of ongoing responses, median DOR may be misleading. Duration of response is defined as the time between date of first response and date of disease progression or death (whichever occurs first).

Progression-free survival in I-1 and I-3 Arms

[0188] A plot of the proportion of PFS versus time is shown in Figure 16. The median PFS was 30.3 weeks in the I-1 arm and 36.0 weeks in the I-3 arm. PFS rate was estimated by Kaplan-Meier methodology with the corresponding 95% CIs derived based on the Greenwood formula.

Objective response rate by baseline PD-L1 expression

[0189] Tumor tissue samples were retrospectively collected, and surface PD-L1 expression was measured by the Dako immunohistochemistry assay using mAb, 28-8 (WO 2013/173223). The cut-off for a positive PD-L1 signal was either 1% or 5% of tumor membrane staining. The ORR observed in different patients, classified according to PD-L1 expression status, is shown in Table 8.

Table 8. Objective response rate (ORR) in RCC patients treated with the combination of nivolumab and ipilimumab, and PD-L1 tumor expression status

PD-L1 cut-off	PD-L1 status	ORR ^a , n/N (%)
1% tumor membrane staining	+	11/33 (33.3)
	-	18/55 (32.7)
5% tumor membrane staining	+	3/14 (21.4)
	-	26/74 (35.1)

^aORR of PD-L1 evaluable patients; ORR includes complete or partial responders determined by RECIST.

[0190] These data show that response of RCC patients to the combination of nivolumab and ipilimumab does not correlate with tumor expression of PD-L1.

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

62

Adverse events in I-1 and I-3 Arms

- [0191] Grade 3-4 related adverse events (AEs) were observed in 16/47 (34%), 30/47 (64%) and 5/6 (83%) in the I1, I3, and IN-3 arms respectively. Five (11%) and 10 (21%) discontinued treatment due to related AE's in the I1 and I3 arms respectively. No patients discontinued due to adverse events in the IN-3 arm, however all six patients required steroids for the treatment of immune-mediated adverse events and not additional patients were enrolled in the IN3 arm.. The most common Grade 3-4 related adverse events included elevated lipase (20%, n=20), elevated ALT (11%, n=11), diarrhea (9%, n=9), and elevated AST (6%, n=6). No grade 3-4 pneumonitis was seen.
- [0192] Overall, nivolumab and ipilimumab showed acceptable safety, grade 3-4 events being manageable within established treatment guidelines, and encouraging evidence of significant antitumor activity in mRCC, with most responses ongoing. The ORR suggests greater activity than reported previously with nivolumab or ipilimumab monotherapy in RCC (Topalian *et al.*, 2012a; Motzer *et al.*, 2014; Choueiri *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2007). The median duration of response had not been reached in the I-1 arm. A portion of patients continued to respond off therapy, suggesting an immune memory component to this regimen. The initial and expansion cohorts, along with the IN-3 arm are continuing to be assessed. The encouraging antitumor activity reported with the nivolumab + ipilimumab combinations is the basis for a planned phase III combination trial in first-line mRCC.

REFERENCES

- Amin *et al.* (2014) Nivolumab (anti-PD-1; BMS-936558, ONO-4538) in combination with sunitinib or pazopanib in patients (pts) with metastatic renal cell carcinoma (mRCC). *J Clin Oncol* 32:5s, (suppl; Abstract 5010, Clinical Science Symposium).
- Blank *et al.* (2005) *Cancer Immunol. Immunother.* 54:307-314.
- Brahmer *et al.* (2010) *J Clin Oncol* 28:3167-75.
- Brahmer *et al.* (2012) *N Engl J Med* 366:2455-65.
- Carter *et al.* (2002) *Eur J Immunol* 32:634-43.
- Choueiri *et al.* (2014) Immunomodulatory activity of nivolumab in previously treated and untreated metastatic renal cell carcinoma (mRCC): Biomarker-based results from a randomized clinical trial. *J Clin Oncol* 32:5s, (suppl; Abstract 5012, Clinical Science Symposium).
- Dong *et al.* (2002) *Nat. Med.* 8:787-9.
- Dong *et al.* (2003) *J. Mol. Med.* 81:281-7.
- Drake *et al.* (2013) *BJU Int* 112(Supplement 3):1-17.
- Elhilali *et al.* (2000) *BJU Int* 86:613-8.
- Escudier *et al.* (2007) *Clin Cancer Res* 13(6):1801-1809.
- Escudier *et al.* (2010) *J Clin Oncol* 28(13):2144-50.
- Eskens *et al.* (2011) *Clin Cancer Res* 17(22):7156-63.
- Flies *et al.* (2011) *Yale J Biol Med* 84:409-21.
- Freeman *et al.* (2000) *J Exp Med* 192:1027-34.
- Fyfe *et al.* (1995) *J Clin Oncol* 13(3):688-96.
- Gollob *et al.* (2007) *J Clin Oncol* 25(22): 3288-95.
- Grunwald *et al.* (2011) *Acta Oncol* 50(1):121-126.
- Gupta *et al.* (2008) *Cancer Treat Rev* 34(3):193-205.
- Hamid and Carvajal (2013) *Expert Opin Biol Ther* 13(6):847-61.
- Hamid *et al.* (2013) *N Engl J Med* 369:134-144.
- Hammers *et al.* (2014) Phase I study of nivolumab in combination with ipilimumab in metastatic renal cell carcinoma (mRCC). *J Clin Oncol* 32:5s, (suppl; Abstract 4504, Oral Abstract Session).
- Heng *et al.* (2009) *J Clin Oncol.* 27:5794-9.

WO 2015/134605

64

PCT/US2015/018727

- Herbst *et al.* (2013) *J Clin Oncol* 31(suppl; Abstract 3000).
- Hipp *et al.* (2008) *Blood* 111:5610-20.
- Hodi *et al.* (2010) *N Engl J Med* 363:711-23.
- Houben *et al.* (2009) *Mol Cancer Ther* 28:433-40.
- Hudes *et al.* (2007) *N Engl J Med* 356(22):2271-81.
- Inman *et al.* (2013) *Eur Urol* 63:881-9.
- Konishi *et al.* (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:5094-100.
- Johnson *et al.* (2013) *Cancer Immunol Res* 1:373-77.
- Khleif (2013) In: Proceedings from the European Cancer Congress 2013; September 27-October 1, 2013; Amsterdam, The Netherlands. Abstract 802.
- Ko *et al.* (2009) *Clin Cancer Res* 15:2148-57.
- Ko *et al.* (2010) *Cancer Res* 70:3526-36.
- Konishi *et al.* (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:5094-100.
- Latchman *et al.* (2001) *Nat Immunol* 2:261-8.
- McDermott and Atkins (2013) *Cancer Med* 2(5):662-73.
- Molhoek *et al.* (2009) *Cancer Immunol Immunother* 58:867-76.
- Motzer *et al.* (2007) *N Engl J Med* 356:115-24.
- Motzer *et al.* (2008) *Lancet* 372:449-56.
- Motzer *et al.* (2009) *Clin Genitourin Cancer* 7(1):28-33.
- Motzer *et al.* (2013) *N Engl J Med* 369:722-31.
- Motzer *et al.* (2014) Nivolumab for metastatic renal cell carcinoma (mRCC): Results of a randomized, dose-ranging phase II trial. *J Clin Oncol* 32:5s, (suppl; Abstract 5009, Clinical Science Symposium).
- Mulders (2009) *BJU Int* 104:1585-89.
- NCCN GUIDELINES® (2014), available at:
http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp#site, last accessed May 30, 2014.
- Nosov *et al.* (2012) *J Clin Oncol* 30(14):1678-85.
- Ozao-Choy *et al.* (2009) *Cancer Res* 69:2514-22.
- Pardoll (2012) *Nat Rev Cancer* 12:252-64.
- PCT Publication No. WO 2012/145493, published October 26, 2012 by Amplimmune, Inc.

WO 2015/134605

65

PCT/US2015/018727

PCT Publication No. WO 2013/173223, published November 21, 2013 by Bristol-Myers Squibb Co.

Procopio *et al.* (2011) *Br J Cancer* 104(8):1256-1261.

Ribas (2010) *Semin Oncol* 37(5):450-4.

Rini *et al.* (2010) *J Clin Oncol* 28(13): 2137-43.

Rini *et al.* (2011) *Cancer* 117:758-67.

Rosenblatt and McDermott (2011) *Hematol Oncol Clin North Am* 25:793-812.

Ryan *et al.* (2007) *J Clin Oncol* 25(22):3296-301.

Siegel *et al.* (2014) *CA Cancer J Clin* 64(1):9-29.

Sjoberg *et al.* (2006) *Science* 314:268-74.

Sonpavde *et al.* (2008) *Expert Opin Investig Drugs* 17(5):741-8.

Sternberg *et al.* (2010) *J Clin Oncol* 28(6):1061-8.

Topalian *et al.* (2012a) *N Engl J Med* 366:2443-54.

Topalian *et al.* (2012b) *Curr Opin Immunol* 24:207-12.

Topalian *et al.* (2014) *J Clin Oncol* 32(10):1020-30.

USAN Council Statement (2013) Pembrolizumab: Statement on a nonproprietary name adopted by the USAN Council (ZZ-165), November 27, 2013.

U.S. Patent No. 5,977,318, issued November 2, 1999 to Linsley *et al.*

U.S. Patent No. 6,051,227, issued April 18, 2000 to Allison *et al.*

U.S. Patent No. 6,682,736, issued January 27, 2004 to Hanson *et al.*

U.S. Patent No. 6,808,710, issued October 26, 2004 to Wood *et al.*

U.S. Patent No. 6,984,720, issued January 10, 2006 to Korman *et al.*

U.S. Patent No. 7,034,121, issued April 25, 2006 to Carreno *et al.*

U.S. Patent No. 7,605,238, issued October 20, 2009 to Korman *et al.*

U.S. Patent No. 7,488,802, issued February 10, 2009 to Collins *et al.*

U.S. Patent No. 7,943,743, issued May 17, 2011 to Korman *et al.*

U.S. Patent No. 8,008,449, issued August 30, 2011 to Korman *et al.*

U.S. Patent No. 8,168,757, issued May 1, 2012 to Finnefrock *et al.*

U.S. Patent No. 8,217,149, issued July 10, 2012 to Irving *et al.*

U.S. Patent No. 8,354,509, issued January 15, 2013 to Carven *et al.*

Yang *et al.* (2007) *J Immunother* 30(8):825-30.

Wang *et al.* (2014) *In vitro* characterization of the anti-PD-1 antibody nivolumab, BMS-936558, and *in vivo* toxicology in non-human primates, *Cancer Imm Res*, in press.

WO 2015/134605

66

PCT/US2015/018727

Wolchok *et al.* (2013) *N Engl J Med* 369(2):122-33.

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

67

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A method for treating a subject afflicted with a renal cancer comprising administering to the subject a combination of therapeutically effective amounts of:
 - (a) an anti-cancer agent which is an antibody or an antigen-binding portion thereof that binds specifically to a Programmed Death-1 (PD-1) receptor and inhibits PD-1 activity; and
 - (b) another anti-cancer agent.
2. The method of claim 1, wherein the renal cancer is renal cell carcinoma.
3. The method of claim 1, wherein the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof cross-competes with nivolumab for binding to human PD-1.
4. The method of claim 1, wherein the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof is a chimeric, humanized or human monoclonal antibody or a portion thereof.
5. The method of any one of claims 1-4, wherein the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a heavy chain constant region which is of a human IgG1 or IgG4 isotype.
6. The method of claim 1, wherein the anti-PD-1 antibody is nivolumab.
7. The method of claim 1, wherein the anti-PD-1 antibody is pembrolizumab.
8. The method of claim 1, wherein the other anti-cancer agent is an anti-angiogenic tyrosine kinase inhibitor.
9. The method of claim 8, wherein the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof is administered at a dose ranging from about 0.1 to about 10.0 mg/kg body weight once about every 2, 3 or 4 weeks.

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

68

10. The method of claim 9, wherein the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof is administered at a dose of 2 or 5 mg/kg body weight once every 3 weeks.
11. The method of claim 8, wherein the tyrosine kinase inhibitor is sunitinib.
12. The method of claim 11, wherein the sunitinib is administered at a dose ranging from 12.5 to 50 mg in a cycle comprising daily administration for 28 days and no administration for 14 days, and repetition of the cycle for as long as clinical benefit is observed or until unmanageable toxicity or disease progression occurs.
13. The method of claim 11, wherein the sunitinib is administered at a dose ranging from 12.5 to 50 mg in a cycle comprising daily administration for 28 days and no administration for 14 days, followed by daily administration of sunitinib at about 37.5 mg for as long as clinical benefit is observed or until unmanageable toxicity or disease progression occurs.
14. The method of claim 8, wherein the tyrosine kinase inhibitor is pazopanib.
15. The method of claim 14, wherein the pazopanib is administered at a dose ranging from 400 to 800 mg administered daily or every other day for as long as clinical benefit is observed or until unmanageable toxicity or disease progression occurs.
16. The method of claim 1, wherein the other anti-cancer agent is an antibody or an antigen-binding portion thereof that binds specifically to Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4 (CTLA-4) and inhibits CTLA-4 activity.
17. The method of claim 16, wherein the anti-CTLA-4 antibody or antigen-binding portion thereof cross-competes with ipilimumab for binding to human CTLA-4.
18. The method of claim 16, wherein the anti-CTLA-4 antibody or antigen-binding portion thereof is a chimeric, humanized or human monoclonal antibody or a portion thereof.

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

69

19. The method of any one of claims 16-18, wherein the anti-CTLA-4 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a heavy chain constant region which is of a human IgG1 isotype.
20. The method of claim 16, wherein the anti-CTLA-4 antibody is ipilimumab.
21. The method of claim 16, wherein the anti-CTLA-4 antibody is tremelimumab.
22. The method of claim 16, comprising:
 - (a) an induction phase, wherein the anti-PD-1 and anti-CTLA-4 antibodies or antigen-binding portions thereof are administered in combination in 2, 4, 6, 8 or 10 doses, each dose ranging from 0.1 to 10.0 mg/kg body weight administered at least once every 2, 3, or 4 weeks; followed by
 - (b) a maintenance phase, wherein no anti-CTLA-4 antibody or antigen-binding portion thereof is administered and the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof is repeatedly administered at a dose ranging from 0.1 to 10 mg/kg at least once every 2, 3 or 4 weeks.
23. The method of claim 22, wherein:
 - (a) the induction phase comprises 4 combination doses administered at 3-week intervals, wherein:
 - (i) the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof is administered at 3 mg/kg body weight and the anti-CTLA-4 antibody or antigen-binding portion thereof is administered at 1 mg/kg body weight;
 - (ii) the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof is administered at 1 mg/kg body weight and the anti-CTLA-4 antibody or antigen-binding portion thereof is administered at 3 mg/kg body weight; or
 - (iii) the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof is administered at 3 mg/kg body weight and the anti-CTLA-4 antibody or antigen-binding portion thereof is administered at 3 mg/kg body weight; and
 - (b) the maintenance phase comprises repeated administration of the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof at a dose of 3 mg/kg every 2 weeks for as

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

70

long as clinical benefit is observed or until unmanageable toxicity or disease progression occurs.

24. The method of any claim 22, wherein the anti-PD-1 and anti-CTLA-4 antibodies are formulated for intravenous administration.
25. The method of claim 22, wherein the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof and the anti-CTLA-4 antibody or antigen-binding portion thereof are administered sequentially to the subject during the induction phase.
26. The method of claim 25, wherein the anti-PD-1 and anti-CTLA-4 antibodies are administered within 30 minutes of each other.
27. The method of claim 25, wherein
 - (a) the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof is administered before the anti-CTLA-4 antibody or antigen-binding portion thereof; or
 - (b) the anti-CTLA-4 antibody or antigen-binding portion thereof is administered before the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof.
28. The method of claim 22, wherein the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof and the anti-CTLA-4 antibody or antigen-binding portion thereof are administered concurrently in separate compositions.
29. The method of claim 22, wherein the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof and the anti-CTLA-4 antibody or antigen-binding portion thereof are admixed as a single composition for concurrent administration.
30. The method of claim 22, wherein the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof is administered at a subtherapeutic dose.

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

71

31. The method of claim 22, wherein the anti-CTLA-4 antibody or antigen-binding portion thereof is administered at a subtherapeutic dose.
32. The method of claim 22, wherein the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof and the anti-CTLA-4 antibody or antigen-binding portion thereof are each administered at a subtherapeutic dose.
33. The method of claim 22, wherein administration of the anti-PD-1 antibody in the maintenance phase is continued for as long as clinical benefit is observed or until unmanageable toxicity or disease progression occurs.
34. A kit for treating a subject afflicted with a renal cancer, the kit comprising:
- (a) a dosage ranging from 0.1 to 10 mg/kg body weight of an anti-cancer agent which is an antibody or an antigen-binding portion thereof that specifically binds to the PD-1 receptor and inhibits PD-1 activity;
 - (b) a dosage of another anti-cancer agent which is
 - (i) an anti-angiogenic tyrosine kinase inhibitor; or
 - (ii) a dosage ranging from 0.1 to 10 mg/kg body weight of an antibody or an antigen-binding portion thereof that specifically binds to and inhibits CTLA-4; and
 - (c) instructions for using the anti-PD-1 antibody and the other anti-cancer agent in the method of any of claims 1, 8 or 16.
35. The method of any one of claims 1 to 33, wherein the administration of the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof and the other anti-cancer agent increases T cell infiltration of the renal cancer tissue compared to an untreated subject or a subject treated with a monotherapy of the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof or the other anti-cancer agent.
36. The method of claim 35, wherein the increased T cell infiltration is characterized by increased infiltration of CD4⁺/Ki67⁺ T cells, CD8⁺ T cells, CD8⁺/Ki67⁺ T cells, or any combination thereof.

WO 2015/134605

PCT/US2015/018727

72

37. The method of claim 36, wherein the increased T cell infiltration is characterized by increased infiltration of CD4⁺/Ki67⁺ T cells, CD8⁺/Ki67⁺ T cells, or both.
38. The method of any one of claims 35 to 37, wherein the T cell infiltration is increased by at least about 10%, at least about 20%, at least about 30%, at least about 40%, at least about 50%, at least about 60%, at least about 70%, at least about 80%, or at least about 90%.
39. The method of any one of claims 1 to 33 and 35 to 38, wherein the administration of the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof and the other anti-cancer agent increases proliferating T cells compared to an untreated subject or a subject treated with a monotherapy of the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof or the other anti-cancer agent.
40. The method of claim 39, wherein the proliferating T cells are CD4⁺/Ki67⁺ T cells, CD8⁺ T cells, CD8⁺/Ki67⁺ T cells, or any combination thereof.
41. The method of claim 39 or 40, wherein the frequency of proliferating T cells is increased by at least about 10%, at least about 20%, at least about 30%, at least about 40%, at least about 50%, at least about 60%, at least about 70%, at least about 80%, or at least about 90%.
42. The method of any one of claims 1 to 33 and 35 to 41, wherein the administration of the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof and the other anti-cancer agent decreases the number of monocytic myeloid-derived suppressor cells compared to an untreated subject or a subject treated with a monotherapy of the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof or the other anti-cancer agent.
43. The method of claim 42, wherein the number of monocytic myeloid-derived suppressor cells is decreased by at least about 5%, at least about 10%, at least about 15%, at least about 20%, at least about 25%, at least about 30%, at least about 40%, at least about 50%, at least about 60%, at least about 70%, at least about 80%, or at least about 90%.

WO 2015/134605

73

PCT/US2015/018727

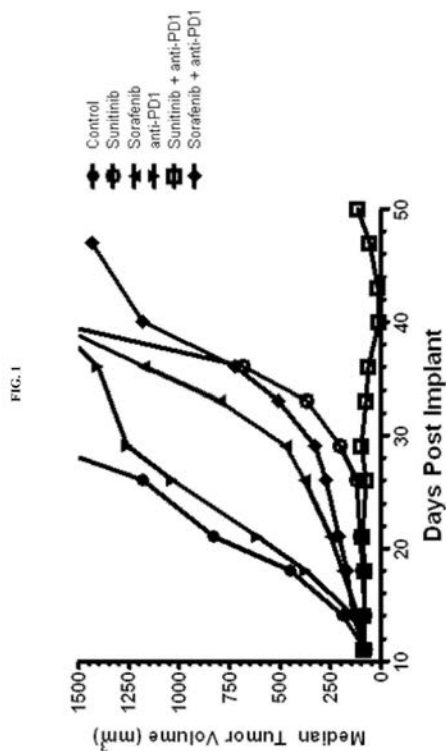
44. The method of claim 42 or 43, wherein the monocytic myeloid-derived suppressor cells are characterized by $CD11b^+/Ly6C^{hi}/Ly6G^-$ expression or $CD11b^+/Ly6C^{low}/Ly6G^-$ expression.
45. The method of any one of claims 1 to 33 and 35 to 44, wherein the administration of the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof and the other anti-cancer agent increases the number of granulocytic myeloid cells compared to an untreated subject or a subject treated with a monotherapy of the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof or the other anti-cancer agent.
46. The method of claim 44, wherein the number of granulocytic myeloid cells is increased by at least about 5%, at least about 10%, at least about 20%, at least about 30%, at least about 40%, at least about 50%, at least about 60%, at least about 70%, at least about 80%, or at least about 90%.
47. The method of claim 45 or 46, wherein the granulocytic myeloid cells are characterized by $CD11b^+/Ly6C^-/Ly6G^+$ expression.
48. The method of any one of claims 1 to 33 and 35 to 47, wherein the administration of the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof and the other anti-cancer agent decreases T-regulatory cells compared to an untreated subject or a subject treated with a monotherapy of the anti-PD-1 antibody or antigen-binding portion thereof or the other anti-cancer agent.
49. The method of claim 48, wherein the T-regulatory cells are characterized by $CD45^+/CD4^+/CD25^+/FoxP3^+$ expression.

(57) Abstract: This disclosure provides a method for treating a subject afflicted with a renal cancer, which method comprises administering to the subject therapeutically effective amounts of: (a) an anti-cancer agent which is an antibody or an antigen-binding portion thereof that specifically binds to a Programmed Death-1 (PD-1) receptor and inhibits PD-1 activity; and (b) another anti-cancer agent. The other anti-cancer agent may be an anti-angiogenic tyrosine kinase inhibitor or an anti-Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4 (CTLA-4) antibody. The disclosure also provides a kit for treating a subject afflicted with a renal cancer, the kit comprising a dosage of an anti-PD-1 antibody, a dosage of another anti-cancer agent which is an anti-angiogenic tyrosine kinase inhibitor or an anti-CTLA-4 antibody, and instructions for using the anti-PD-1 antibody and the other anti-cancer agent in any of the disclosed methods for treating a renal cancer.

WO 2015/134605

1/23

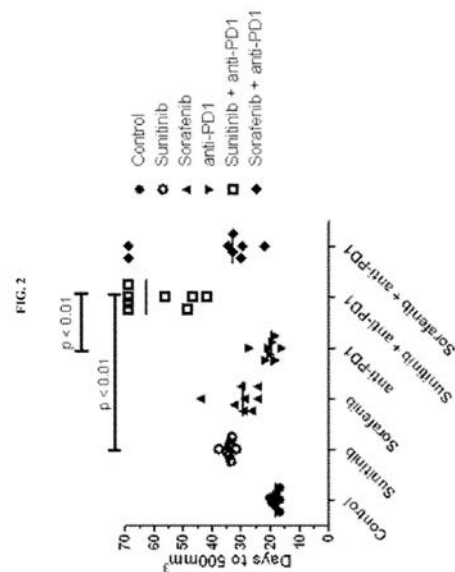
PCT/US2015/018727

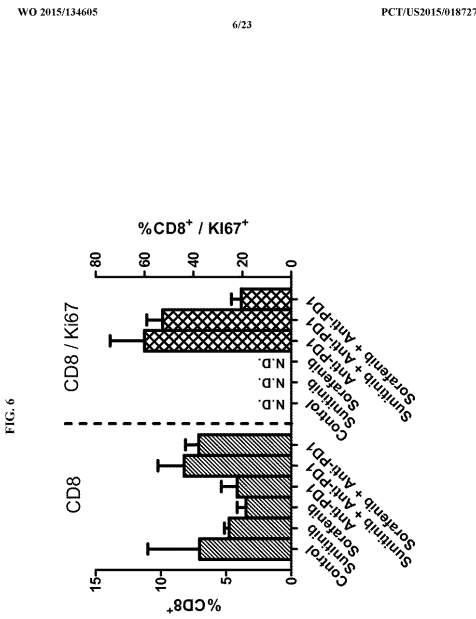
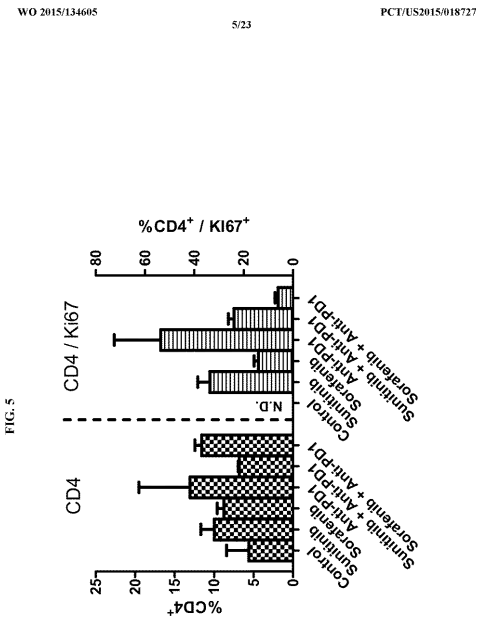
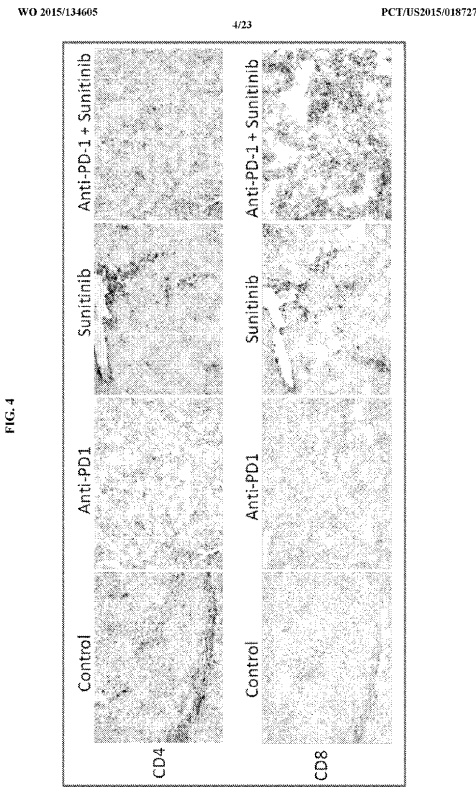
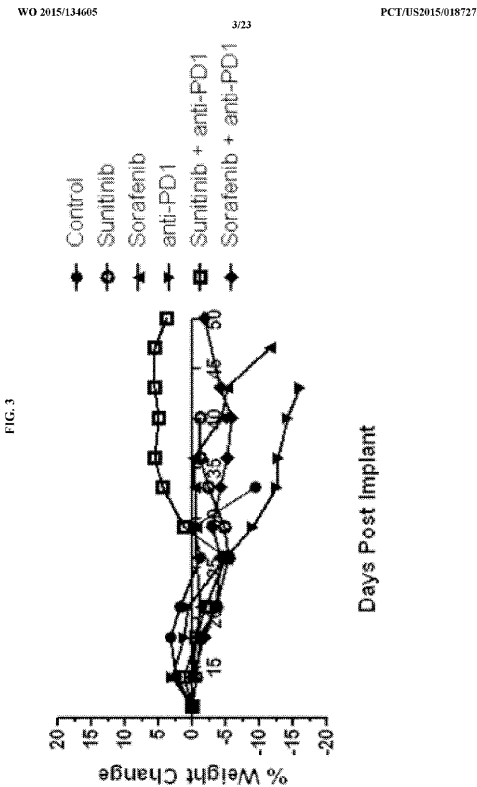


WO 2015/134605

2/23

PCT/US2015/018727

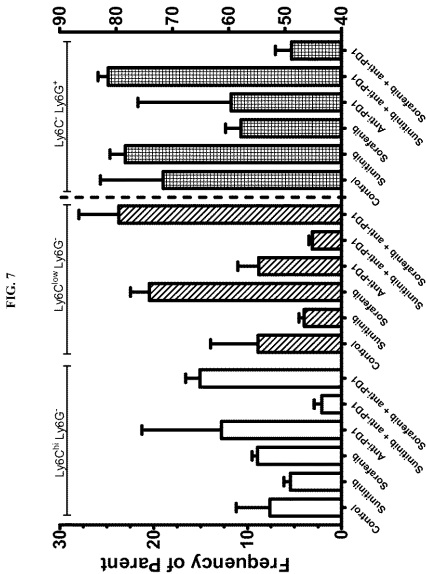




WO 2015/134605

7/23

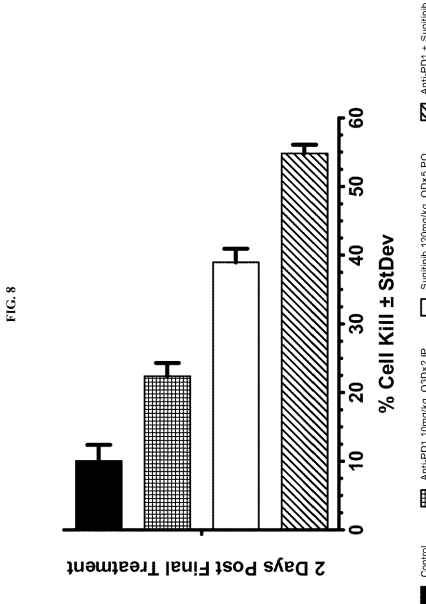
PCT/US2015/018727



WO 2015/134605

8/23

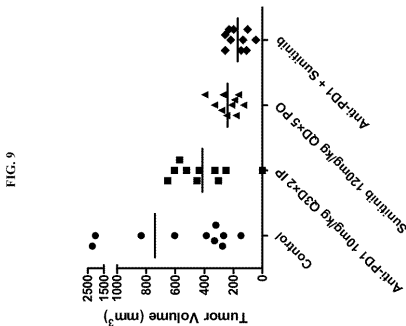
PCT/US2015/018727



WO 2015/134605

9/23

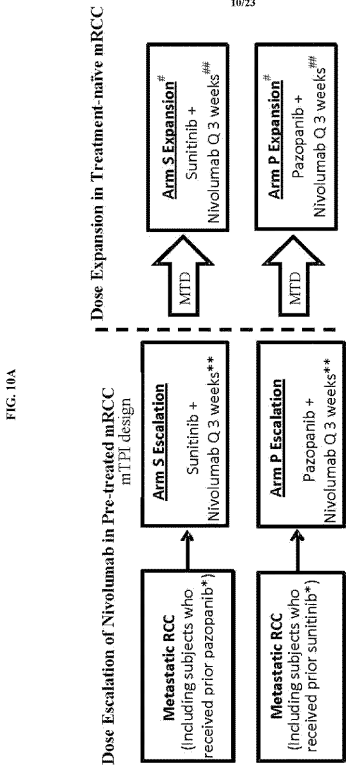
PCT/US2015/018727



WO 2015/134605

10/23

PCT/US2015/018727

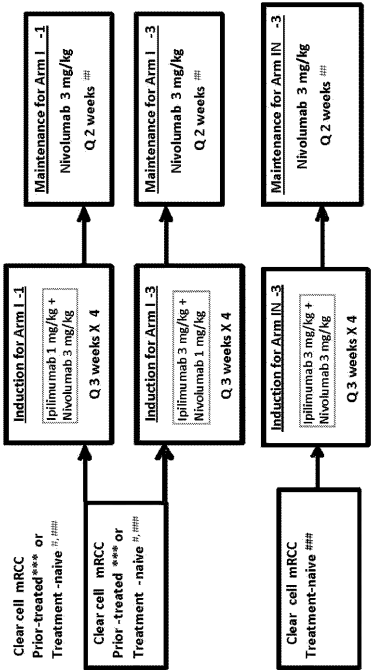


WO 2015/134605

11/23

PCT/US2015/018727

FIG. 10B

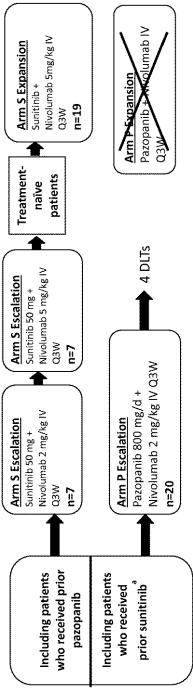


WO 2015/134605

12/23

PCT/US2015/018727

FIG. 11

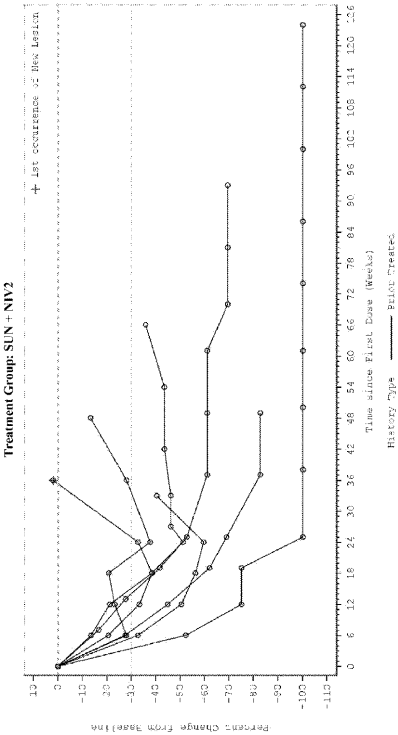


WO 2015/134605

13/23

PCT/US2015/018727

FIG. 12A

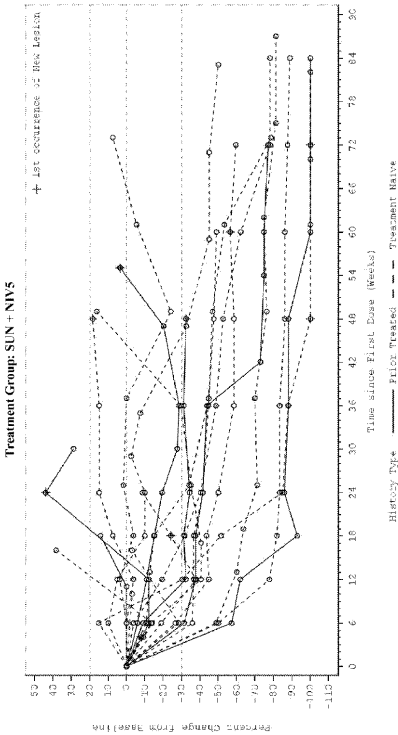


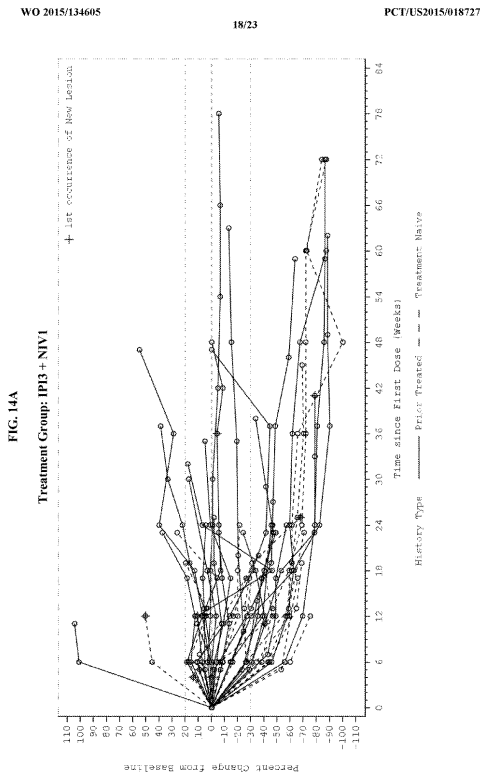
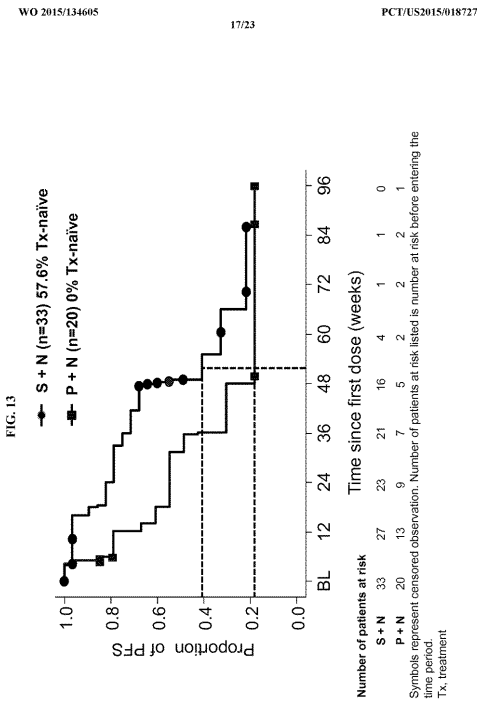
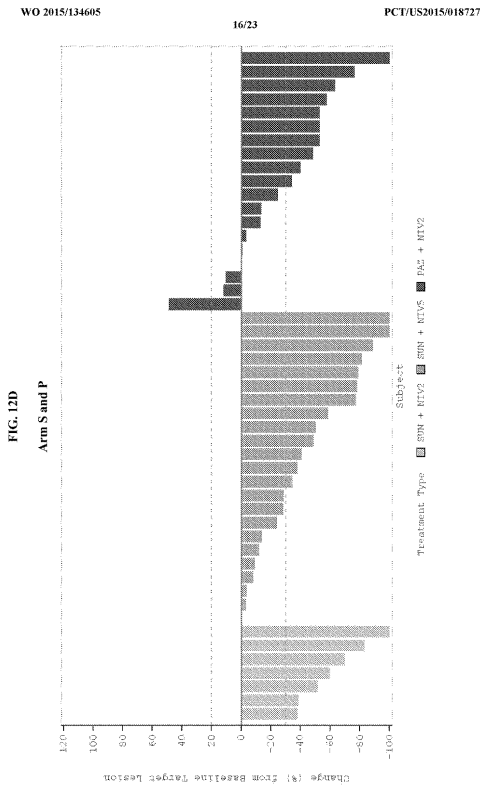
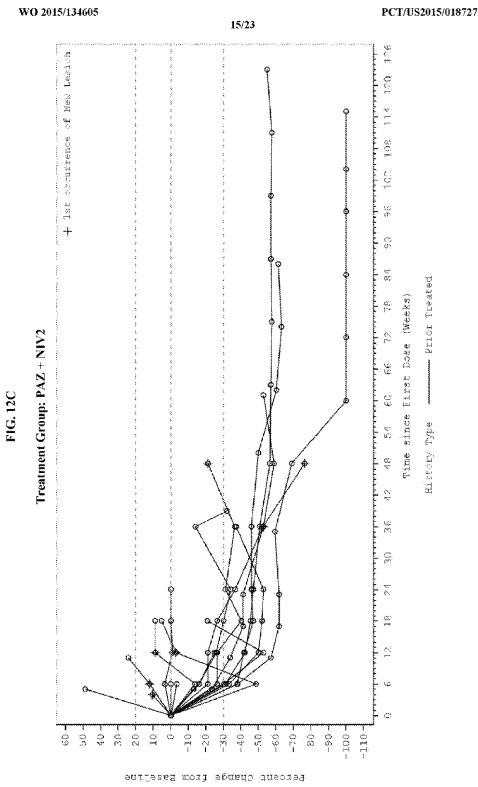
WO 2015/134605

14/23

PCT/US2015/018727

FIG. 12B



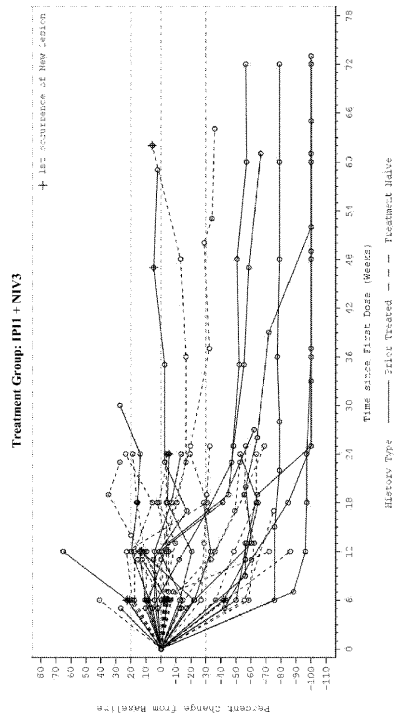


WO 2015/134605

19/23

PCT/US2015/018727

FIG. 14B

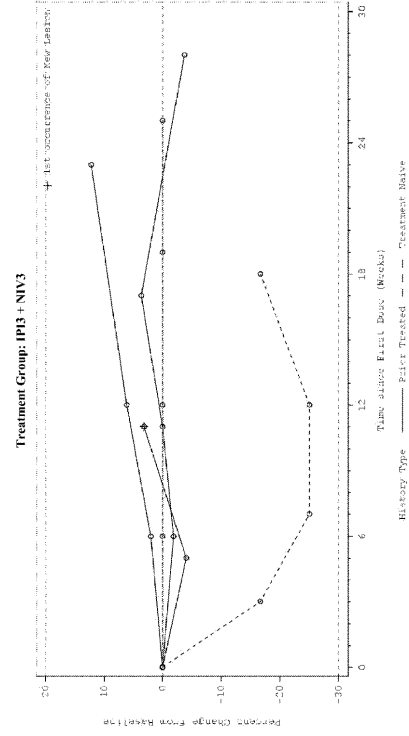


WO 2015/134605

20/23

PCT/US2015/018727

FIG. 14C

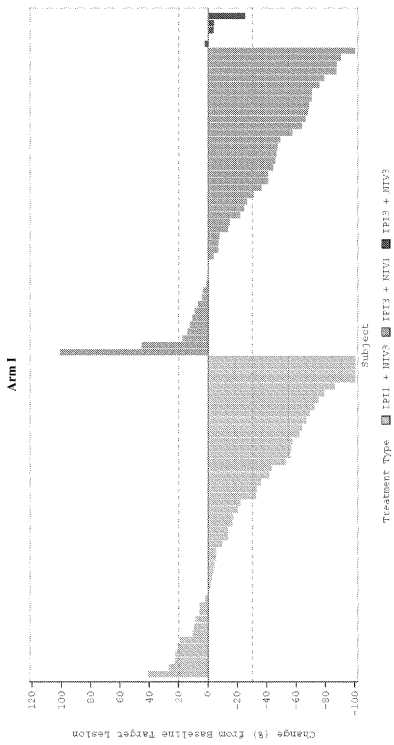


WO 2015/134605

21/23

PCT/US2015/018727

FIG. 14D

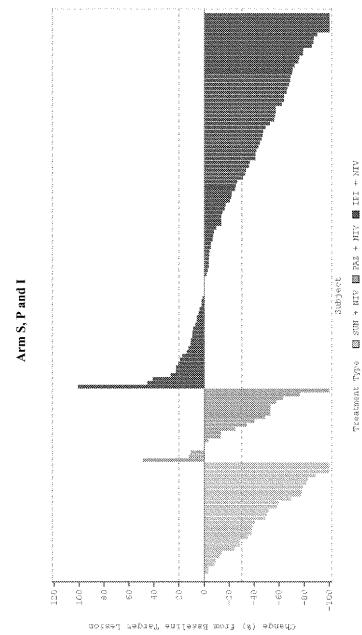


WO 2015/134605

22/23

PCT/US2015/018727

FIG. 15



WO 2015/134605

23/23

PCT/US2015/018727

FIG. 16

